

SÉRIE A, N° 3990

N° D'ORDRE :

4841

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

Myriam VALLÉE née SHEALTIEL

PREMIÈRE THÈSE

Recherches
sur l'exsorption et l'absorption du rubidium
par des racines excisées d'Orge

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 13 Mars 1963 devant la Commission d'examen

MM. PLANTEFOL

Président

CHOUARD

HELLER

Examineurs

SÉRIE A, N° 3990

N° D'ORDRE

4841

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

Myriam VALLÉE née SHEALTIEL

PREMIÈRE THÈSE

Recherches

sur l'exsorption et l'absorption du rubidium
par des racines excisées d'Orge

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

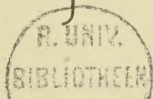
Soutenues le 13 Mars 1963 devant la Commission d'examen

MM. PLANTEFOL Président

CHOUARD

HELLER

} Examinateurs



PROFESSEURS

Doyen M. ZAMANSKY

G. JULIA	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure	Mme LELONG	T Mathématiques (E.N.S.)
DE BROGLIE	T Théories physiques	BELLAI	T Géologie (N.P.C.N.)
PRENANT	T Anatomie et Histologie comparées	COTTE	T Physique électricité
GRASSE	T Evolution des êtres organisés	DUBOIS J.E.	T Chimie organique
PREVOST	T Chimie organique	LAMOTTE	T Zoologie (E.N.S.)
CHAUDRON	T Chimie appliquée	MICHEL A.	T Chimie Minérale (Orsay)
WYART	T Minéralogie et Cristal.	OLMER	T Energétique générale
TENSIER	T Zoologie	ROUAULT	T Electricité (Orsay)
MANGENOT	T Biologie Vég. (Orsay)	GAUTHIER	T Mécanique appliquée
AUGER	T Physique quantique et Relativité	BARCHIEWITZ	T Chimie Physique
MONNIER	T Physiologie Générale	BROSSEL	T Physique atomique
PIVETEAU	T Paléontologie	BUSER	T Physiologie comparée
ROCARD	T Physique (E.N.S.)	CAMUS	T Physiologie Vég. BMPV
CARTAN	T Mathématiques (E.N.S.)	CASTAING	T Physique (Orsay)
LAFFITTE	T Chimie générale	CURIE	T Minéralo. et Cristallog.
FAVARD	T Géométrie supérieure	MOYSE	T Physiologie Vég. (Orsay)
COULOMB	T Physique du Globe	NOIROT	T Evolution des Etres Org.
Mlle COUSIN	T Biologie Animale (NPCN)	FANNETIER	T Chimie générale (Orsay)
CHRETIEN	T Chimie minérale	POSSOMPES	T Zoologie
DRACH	T Zoologie	PULLMANN	T Chimie théorique
KANTLER	T Physique (E.N.S.)	TEILLAC	T Physique Nucl. et Radio- activité
EPHROSSI	T Génétique	TONNELAT	T Biologie Physico-chim.
RIVIERE	T Géologie NPCN et sédim.	VILLE	T Econométrie
GAUTHIERET	T Biologie Vég. (P.C.B.)	WILLEMART	T Chimie (P.C.B.)
LUCAS R.	T Recherches Physiques	DODE	T Chimie (Orsay)
THOMAS A.	T Biologie cellulaire	FREYMANN	T Recherches Physiques
ARNULF	T Optique appliquée	GUINCHET	T Biol. Vég. NPCN (Orsay)
MORAND	T Physique Enseignement	ROLLET	T Chimie (P.C.B.)
SOLEILLET	T Physique (P.C.B.)	Mlle JOSIE	T Chimie S.P.C.N.
FORTIER	T Mécanique exp. des Fluides	CHEVALLEY	T Géométrie algébrique et théorie des groupes
DANJON	T Astronomie	ARNOULT	T Electronique (Orsay)
PETIT	T Biologie maritime	CHAPELLE	T Physique (Orsay)
QUENEY	T Météorologie et dynamique atmosphérique	DELANGE	T Mathématiques (Orsay)
GALLIEN	T Embryologie	DENY	T Mathématiques Gén. Orsay
EICHORN	T Botanique	GERMAIN	T Mécan. théor. des Fluides
DE CUGNAC	T Biologie Végétale (NPCN)	LUCAS G.	T Géologie
Mlle CAUCHON	T Chimie Physique	ALLARD	T Chimie Physique
THELLIER	T Physique du Globe	BERTHELOT	T Phys. Fondamentale des Hautes Energies (Orsay)
L'HERITIER	T Biologie Générale (Orsay)	BRICART	T Météorologie et phys. de l'Atmosphère.
GRIVET	T Radioélectricité (Orsay)	Mme ALBE-FENNARD	T Psychophysologie
PONCIN	T Mécanique Générale	FRIEDEL	T Physique des Solides (Ors)
DUBREIL	T Arithmétique et théorie des Nombres	M. JULIA	T Etudes des Moléculaires naturelles complexes
QUELET	T Chimie Organique	LENDER	T Biol. Animale (NPCN) Orsay
CAGNIARD	T Géophysique appliquée	MAGAT	T Physico-chimie des radio- éléments
CHAMPETIER	T Chimie macromoléculaire	Mlle QUINTIN	T Electrochimie
CUVILLIER	T Micropaléontologie	MONOD	T Chimie du métabolisme
JUNG	T Micrographie	BENOIT	T Physiol. Anim. (Orsay)
TRILLAT	T Microscopie et diffrac- tion électronique	DE PONSSEL	T Analyse numérique
WISMANN	T Chimie organique et struc.	CHARLOT	T Chimie analytique
JACQUINOT	T Spectroscopie et physique céleste (Orsay)	HAUSSINKY	T Radiochimie
VASSY	T Physique de l'atmosphère	LEMEE	T Physiol. Vég. BMPV (Orsay)
DESTOUCHES	T Théories Physiques	GUERIN	T Chimie M.P.C. (Orsay)
AMIEL	T Chimie générale	CHATELET M.	T Chimie (P.C.B.)
HOCART	T Minéralogie et Cristallog.	JEAN	T Physique Nucléaire (Orsay)
J.P. MATHIEU	T Physique (Optique)	MATTLER	T Physique S.P.C.N.
COUTEAUX	T Biologie animale (P.C.B.)	MICHEL L.	T Phys. Théor. des Htes Energies (Orsay)
MAY	T Zoologie (Orsay)	BERGERARD	T Zoologie (Orsay)
CHOQUET	T Théorie des fonctions et Topologie	BERTHEIN	T Electronique (Orsay)
FELDMANN	T Biologie Végétale marine	BOUSSIÈRES	T Chimie des Radioéléments (Orsay)
GUINIER	T Physique des Solides (Orsay)	Mme COUTURE	T Thermodynamique et Méc. Physique
JOST	T Physiologie comparée	ELLENBERGER	T Géologie appl. a/le terr.
FORTET	T Calcul des Probabilités et Physique mathématique	FRANC	T Biol. Animale (P.C.B.)
SCHWARTZ	T Calcul diff. et Intégral	SCINELL	T Botanique tropicale (Orsay)
CHOUARD	T Physiologie Végétale	STOLKOWSKI	T Physiologie générale
MALAVARD	T Aviation (Techn. Aéronaut.)	ACHER	T Chimie Biol. (Orsay)
BRIUET	T Calcul diff. et intégral	BAUDOUIN	T Biologie animale P.C.B.
NORMANT	T Synthèse organique générale	REAUMONT	T Biologie animale NPCN
BENARD	T Chimie Minérale	BLAMONT	T Géophysique Ionosphère
BUVAT	T Botanique (E.N.S.)	BOURREAU	T Botanique
DUGUE	T Statistiques Mathématiques	CURIE D.	T Physique (M.G.P.)
NOULAIAC	T Psychophysologie	DURAND-DELGA	T Géologie
ULRICH	T Physiologie Végétale	FREON	T Chimie organique (Orsay)
MARECHAL	T Optique théorique et Appl.	HELLER	T Physiologie végétale
KIRRMANN	T Théories Chimiques	TORTRAT	T Calcul des Probabilités
CHADEPAUD	T Botanique	CAILLEUX	T Géologie (N.P.C.N.)
Mlle LE BRETON	T Physiologie de la nutri.	MAGNAN	T Physique (S.P.C.N.)
SALEM	T Mathématiques générales	DAUDEL	T Mécanique ondulatoire appl. à la Chim. Théor. et à la Phys. Nucléaire
LELONG	T Applie. de l'Analyse à la géométrie	Mlle FOURCHOY	T Biol. Végétale (SPCN)
DEVILLERS	T Anatomie et Histologie Comp.	Mme CHOQUET-BRUHAT	T Méc. Analytique et Méc. céleste
EHRESMANN	T Topologie Algébrique	Mlle VEIL	T Physiologie Générale
FRANCON	T Physique (S.P.C.N.)	LWOFF	T Microbiologie
GLANGEAUD	T Géographie phys. et Géologie dynamique	SIENTRUNK	T Mécan. Phys. et Expérim.
GODEMENT	T Mathématiques (M.P.C.)	LACOMBE	T Métallurg. des métaux Nucl.
PIROT	T Tech. Mathém. de la Phys.	ROCHARD	T Physique P.C.B. (Orsay)
ROCH	T Géologie	CABANNES	T Mécanique générale
SCHATZMAN	T Astrophysique	LESIEUR	T Mathématiques MPC (Orsay)
TERMIER	T Paléontologie stratig.	MAZET	T Mécanique générale (Orsay)
ZAMANSKY	T Mathématiques générales	CAIRE	T Géographie phys. et Géol. Dynamique
LENNUIER	T Physique (M.G.P.)	COMOLET	T Mécanique des Fluides
RIZET	T Génétique (Orsay)	CORABOEUF	T Physiologie Animale
ROUTIER	T Géologie appliquée	DELLOUE	T Physique de l'exosphère
Mme TONNELAT	T Physique Théorique	CORINFLLOT	T Botanique II (Orsay)
DXKMER	T Mathématiques (M.P.C.)	HOULLON	T Biologie Animale P.C.B.
SOUCHAY	T Chimie générale	JULLIEN J.	T Chimie P.C.B.
AIGRAIN	T Electrotechnique gén.	MALGRANGE	T Tech. Math. de la Phys. Antropologie
BRUSSET	T Chimie systématique	OLIVIER	T Botanique II (Orsay)
M. LEVY	T Physique théorique des hautes énergies (Orsay)	NOZIERAN	T Physique ENS. (Orsay)
Mme CHAIX	T Chimie biologique	BLANC-LAPIERRE	T Botanique (Orsay)
Mme HUREL-PY	T Biologie Végétale (PCB)	CHEVAUDON	T Mathématiques (Orsay)
PLAUX	T Chimie (M.P.C.)	KAHANE	T Mathématiques ENS féminine
BRUN	T Méc. théorique des Fluides	SAMUEL	T Astronomie (Orsay)
LEDERRER	T Chimie biologique	KOURGANOFF	T Mécanique céleste
Mme DUBREIL	T Mathém. (Agrégation)	THIRY	

INTRODUCTION

Le présent travail a pour objet principal l'étude du mécanisme d'absorption de l'ion rubidium par des racines excisées d'Orge. Il fait suite à des recherches antérieures entreprises en Israël, à l'instigation de Monsieur le Professeur Heiman de l'Institut de Technologie de Haifa, pour tenter d'élucider certains problèmes concernant les effets nocifs des eaux, à teneur élevée en sodium, sur les cultures irriguées.

Selon Monsieur le Professeur Heiman, la nocivité de ces eaux ne tiendrait pas tant à leur concentration absolue en sodium, qu'à un déséquilibre de la balance ionique, et il serait possible d'atténuer leur nocivité par addition d'autres sels, notamment de sels de potassium.

Pour vérifier ces deux hypothèses, j'ai effectué sur des plantes halophobes (Maïs, Tournesol) et sur un halophyte moyen (Tomate), des essais qui m'ont donné diverses indications sur les interactions sodium-potassium. J'ai constaté, en particulier, que l'influence des concentrations extérieures en Na et en K sur leur absorption, varie avec la sensibilité des plantes aux milieux salins.

Mon but, en venant en France, était d'étudier plus à fond ces phénomènes, en faisant appel à des techniques plus précises, notamment à l'emploi de racines excisées et de radioisotopes.

Il me semblait que les recherches d'Epstein et Hagen (1952) sur la cinétique de l'absorption des ions alcalins par des racines excisées d'Orge me fourniraient une base solide pour aborder le problème. Leurs résultats, croyaient-ils, justifiaient l'introduction, dans les études d'absorption, des méthodes de la cinétique enzymatique susceptibles, par surcroît, de déterminer le type des interactions ioniques éventuelles. A la lumière de leurs travaux, je me proposais donc de suivre l'absorption du Na et du K par divers organes et tissus de plantes halophiles et halophobes, dans des solutions à teneurs variées en ces ions ; puis, par l'analyse cinétique des résultats de définir l'interaction.

J'ai commencé par reprendre certaines expériences d'Epstein et Hagen en utilisant comme eux le rubidium marqué. Mes observations s'écartaient le plus souvent des leurs. D'autre part, mes premiers résultats avec divers matériaux (Orge, Maïs, Carotte, Radis, Betterave) sur l'interaction Na - K me persuadaient d'une plus grande complexité dans le mécanisme d'absorption.

Il m'a semblé alors que le problème de l'interaction entre deux ions ne pouvait pas être valablement abordé, tant que le mécanisme d'absorption d'un seul ion ne serait pas mieux élucidé. Tout au plus, pouvait-on se servir des

phénomènes d'interaction pour tenter d'aborder le problème. J'ai donc préféré abandonner mon sujet initial pour étudier de plus près le mécanisme d'absorption d'un seul ion.

Ayant constaté certaines particularités dans la sortie des ions des tissus après absorption préalable, j'ai étendu mes recherches à ce dernier phénomène, qu'avec R. Heller, (1960) je nommerai exsorption, et qui est intéressant, non seulement en lui-même, mais aussi pour les indications que son étude permet de recueillir sur les différents mécanismes d'entrée des ions.

Ces études, à quelques exceptions près, ont été limitées à un seul organe, les racines excisées d'Orge, et à un seul ion, le rubidium, et cela dans le but de présenter un ensemble cohérent du problème de l'absorption.

Les racines excisées en général, celles d'Orge en particulier, sont devenues depuis le travail de Hoagland et Broyer (1936), un des "cobayes" préférés pour les études d'absorption. Leur emploi m'offrait, entre autres, l'avantage de pouvoir comparer mes résultats avec ceux des autres chercheurs qui les ont utilisées.

L'ion Rb^+ a été préféré au K^+ d'abord envisagé, car d'une part, il a été constaté qu'en général, dans les expériences d'absorption de courte durée, les tissus végétaux distinguent peu entre ces deux ions (Epstein et Hagen 1952, Sutcliffe 1957, Fried et coll. 1958) et d'autre part l'isotope radioactif ^{86}Rb est d'un emploi plus commode que le ^{42}K (rayonnement plus faible, période plus longue).

La partie expérimentale comportera donc, pour l'essentiel, l'étude de divers aspects de l'absorption et de l'exsorption : la variation de ces phénomènes avec le temps, la température et la concentration, l'effet exercé sur eux par la présence d'autres ions alcalins, d'inhibiteurs etc.

Etant donné la complexité des mécanismes en cause, le seul énoncé des résultats expérimentaux ne pouvait évidemment suffire. Une importante discussion générale était nécessaire, portant non seulement sur mes propres recherches, mais encore sur bien d'autres travaux. Souvent même mon apport personnel sera faible par rapport aux résultats des autres chercheurs auxquels je ferai allusion.

Et cependant, le problème de l'absorption est si vaste, si complexe, et présente tant d'imbrications avec les autres processus métaboliques que, même ainsi étendu, ce mémoire ne peut envisager d'en présenter tous les aspects. Je ne suis que trop consciente des lacunes et des points laissés en suspens.

Le présent mémoire comprend trois parties.

La première présente une mise au point succincte de l'état actuel du problème.

La deuxième partie, expérimentale, comprend une description des méthodes et techniques employées, puis une suite de chapitres rapportant les expériences relatives à l'exsorption et à l'absorption. L'exposé des résultats est suivi d'une discussion limitée aux expériences elles-mêmes.

Dans la troisième partie, les résultats et les conclusions sont discutés sur un plan plus élevé, en faisant appel aux résultats d'autres chercheurs.

Quelques recherches relatives à des problèmes annexes sont présentées en supplément dans trois fascicules ronéotypés, respectivement intitulées(1) :

- Recherches préliminaires sur l'interaction sodium-potassium dans les plantes(2).
- Considérations théoriques sur l'énergétique de l'absorption.
- Relations ioniques dans les mitochondries d'Orge et de Blé.

Le présent travail a été effectué, entre 1957 et 1960, à l'Institut National de Recherches Agronomiques à Versailles, et au Laboratoire de Physiologie Végétale de la Sorbonne. La partie expérimentale a été exécutée dans sa plus grande partie à Versailles, en 1957-58. Pendant la première année, j'ai travaillé dans le laboratoire de Monsieur Barbier, Directeur de recherches dans la Section d'Agronomie, et pendant la seconde, dans le laboratoire de Physiologie Végétale de Monsieur le Professeur Ducet qui a bien voulu mettre son expérience au service de mes recherches. Depuis 1959, c'est à la Sorbonne que j'ai continué mes travaux. Monsieur le Professeur Heller a eu la grande bienveillance de diriger et de suivre de très près la rédaction de ma thèse.

Je voudrais, à cette occasion, exprimer ma reconnaissance à tous ceux qui m'ont aidée à mener cet ouvrage à son terme :

Je dois des remerciements très chaleureux à Monsieur le Professeur Plantefol, Membre de l'Institut, qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon Jury de thèse. Je lui suis aussi vivement reconnaissante pour les démarches qu'il a faites auprès de diverses Institutions, afin de faire subventionner mes recherches, ainsi que pour l'intérêt qu'il a bien voulu prendre à mes travaux lors de la présentation de deux notes à l'Académie des Sciences. Ses conseils et ses remarques m'ont aidée à prendre conscience des relations étroites entre la pensée scientifique et son mode d'expression.

Ma très profonde reconnaissance va à Monsieur le Professeur Chouard qui m'a témoigné, depuis mon arrivée en France, et ceci malgré ses lourdes charges, une sollicitude très efficace pour l'obtention de bourses et pour l'accès à des laboratoires de recherches. Je le remercie également de m'avoir honorée de sa présence dans le Jury, comme examinateur de la deuxième thèse.

Ma dette envers Monsieur le Professeur Heller est trop grande pour pouvoir lui exprimer toute ma reconnaissance. Il a consenti à réviser maintes fois le même texte jusqu'à ce qu'il soit devenu clair et présentable. Il a fait preuve de beaucoup de patience à mon égard. Tout ce que mon travail possède de clarté et de cohérence logique, c'est à lui que je le dois. Son raisonnement clair et déductif m'a été un exemple qui restera présent à ma mémoire. Je le prie de bien vouloir croire à ma profonde gratitude.

(1) On peut se les procurer à l'adresse suivante : Mme M. Vallée, Faculté des Sciences, Laboratoire de Physiologie Végétale, rue Victor Cousin 1, Paris V.

(2) Ce travail a été effectué en Israël.

Je suis très profondément obligée à Monsieur le Professeur Ducet, chez qui j'ai travaillé en 1958 et qui, depuis, a continué à s'intéresser à mes recherches. Il n'a épargné ni temps ni efforts pour rendre possible le progrès de mes travaux. Je l'ai toujours trouvé disponible pour discuter les différents problèmes qui se sont présentés. Son expérience et ses conseils m'ont été des plus utiles. Qu'il reçoive ici l'expression de ma profonde reconnaissance et de mon amitié.

Mes très chaleureux remerciements vont au Docteur R.J. Helder, (Laboratoire de Physiologie Végétale, Gröningen, Pays Bas) qui a lu très attentivement mon manuscrit, et dont les nombreuses remarques et suggestions m'ont été fort précieuses.

J'adresse mes vifs remerciements à Monsieur Barbier, de l'I.N.R.A. à Versailles, qui m'a reçue dans son laboratoire en 1957, et à Monsieur Blachère qui a mis à ma disposition une partie de son laboratoire et a fait tout le nécessaire pour faciliter mes recherches.

Que Monsieur Michel Thellier reçoive l'expression de mon amitié et de ma reconnaissance pour m'avoir accueillie dans son laboratoire où règne une sympathique atmosphère de coopération et de bonne volonté.

Je remercie chaleureusement Madame Khouvine et Monsieur le Professeur Rosenberg de l'Institut Pierre Curie, qui m'ont aidée à résoudre plusieurs problèmes techniques.

J'adresse ma gratitude à Madame Lessaint et à Madame Leroux, de l'I.N.R.A., pour l'aide technique très consciencieuse, pleine de bonne volonté et d'amabilité qu'elles m'ont donnée.

Que Monsieur Cohen, attaché de recherches au C.N.R.S., reçoive l'expression de ma profonde gratitude pour m'avoir généreusement dispensé son temps en corrigeant mon texte.

Je prie le Comité d'Accueil des Etudiants Etrangers, en particulier Madame Labrousse et Mademoiselle Cordier, de recevoir l'expression de ma gratitude. Je leur ai dû le fréquent renouvellement des bourses qui m'ont été octroyées. Elles l'ont été par le Ministère des Affaires Etrangères, par le Ministère de l'Education Nationale et par l'I.N.R.A., qui ont ainsi témoigné de beaucoup de générosité, dont je leur suis très obligée.

Ma vive reconnaissance est acquise à Monsieur l'Ambassadeur Gilbert, ancien Ambassadeur de France en Israël, pour son intervention auprès du Ministère de l'Education Nationale qui m'a accordé une bourse.

Que Monsieur le Professeur Moyse veuille bien agréer l'expression de ma reconnaissance pour toutes ses démarches en vue d'obtenir des subventions qui m'étaient indispensables.

Je voudrais enfin, et ce n'est pas mon moindre plaisir, remercier mes camarades de la Sorbonne, et en particulier Mademoiselle Richez, dont le bon vouloir toujours égal et la gentillesse dévouée ont beaucoup simplifié ma tâche. -

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE GÉNÉRALE
DES PHÉNOMÈNES D'ABSORPTION



Digitized by the Internet Archive
in 2026

CHAPITRE I

ÉVOLUTION DES CONCEPTIONS

I - ANCIENNES HYPOTHESES : LES THEORIES DE LA PERMEABILITE PASSIVE

A la fin du XIX^e siècle et au début du XX^e deux hypothèses s'étaient imposées pour expliquer l'entrée des substances dissoutes dans les cellules : celle de l'ultrafiltration (Ruhland 1912, 1914, Küster 1911, 1918), et celle de la solution lipidique (Overton 1895, 1900).

Essentiellement fondées sur des expériences effectuées avec des substances organiques, l'une et l'autre admettent que :

1/ les corps dissous pénètrent dans les cellules par un phénomène de diffusion ;

2/ l'équilibre avec la solution extérieure s'établit lorsque l'activité de ces substances dans les cellules devient égale à celle existant dans le milieu ambiant ;

3/ la vitesse de pénétration dépend des propriétés de la membrane cytoplasmique.

Mais, dans la théorie de l'ultrafiltration, la membrane cytoplasmique se comporterait comme un ultrafiltre ; la vitesse de pénétration des corps dissous serait déterminée par les dimensions des pores de la membrane et par celles des particules en solution, alors que, selon la théorie de la solution lipidique, le passage des substances est conditionné par la solubilité des corps dissous dans les lipides membranaires.

II - CONCEPTIONS PENDANT LA PERIODE ENTRE LES DEUX GUERRES

Découvertes principales

Dans la période qui suit la première guerre mondiale et jusqu'à 1930 environ, de nouvelles perspectives s'ouvrent à la suite de découvertes faites par plusieurs chercheurs, notamment par Osterhout et par Hoagland, dont voici les plus importantes :

1/ les cellules végétales accumulent des cations et des anions contre un gradient de concentration, et cela, tant dans le cytoplasme que dans la vacuole ;

2/ l'absorption est étroitement liée au métabolisme cellulaire ;

3/ elle est physiologiquement sélective ;

4/ les cations et les anions ne sont pas absorbés en quantités équivalentes ;

5/ à de fortes concentrations externes en sels, le mécanisme d'absorption manifeste un phénomène de saturation, autrement dit, à partir d'une certaine concentration la vitesse d'absorption varie peu.

Les forces de diffusion ne pouvant, à elles seules, rendre compte de ces faits, il fallut recourir à de nouvelles hypothèses⁽¹⁾.

Théories physico-chimiques

Les plus anciennes de ces hypothèses font appel au jeu des forces physico-chimiques pour expliquer l'absorption. En général, les mécanismes proposés sont fondés sur un même principe : les ions pénètrent dans les cellules dans le sens de leur gradient électrochimique qui, nous le verrons, peut avoir un sens contraire au gradient de concentration.

Des modèles physiques furent conçus, à l'image de la cellule vivante, faisant intervenir différentes forces physiques. La plupart de ces forces se rattachent aux propriétés ioniques des protéines, ampholytes, susceptibles de retenir des ions à leur surface. Certains modèles font aussi intervenir le métabolisme qui maintiendrait le potentiel électrochimique des ions à l'intérieur de la cellule, plus bas qu'à l'extérieur.

Comme exemple de ces mécanismes, nous citerons celui de Donnan qui fonctionne sans l'intervention directe du métabolisme, et celui de Lapique qui est sous sa dépendance.

Donnan (1911) transpose à la cellule, les lois qu'il a découvertes et qui font, comme on sait, intervenir les charges des ions non diffusibles. Suivant que ces charges sont positives ou négatives, la cellule accumulerait des anions ou des cations contre une différence de concentration.

Le mécanisme de Lapique (1925) peut se résumer ainsi : le métabolisme cellulaire maintient le pH de la vacuole plus acide que celui de l'extérieur. Les protéines sont portées par la cyclose du cytoplasme alternativement au contact de ces deux milieux dont les pH sont de part et d'autre de leur point isoélectrique. Par suite, au contact du suc vacuolaire, elles libèrent des cations et se chargent d'anions, tandis que le contraire se produit au contact du milieu extérieur. Le résultat d'une telle opération conduit à une accumulation de cations dans la vacuole.

Mais de telles hypothèses, n'expliquent ni la sélectivité physiologique de l'absorption, ni l'accumulation des deux types d'ions dans la vacuole.

Théories métaboliques : l'hypothèse des transporteurs ou vecteurs

Ainsi, devant l'insuffisance des théories précédentes, des nouvelles hypothèses apparurent, pour la plupart simples variantes d'une hypothèse plus générale : celle des vecteurs, selon laquelle la cellule posséderait une barrière de diffusion imperméable aux ions à l'état libre. Ceux-ci la traverse-

(1) Les problèmes de perméabilité passive des membranes n'ont pas pour autant perdu leur actualité. De nombreux chercheurs, notamment des zoophysiolgistes continuent à s'en occuper. Les progrès atteints permettront sans doute, dans l'avenir, leur plus étroite intégration aux problèmes de l'absorption.

raient associés à des vecteurs plus ou moins spécifiques qui, parvenus à l'intérieur, les libèreraient. Le fonctionnement des vecteurs serait sous la dépendance étroite du métabolisme oxydatif.

Cette hypothèse est en bon accord avec les faits expérimentaux. Elle explique en effet :

1/ l'accumulation simultanée de deux ions complémentaires : soit que des vecteurs distincts régissent l'accumulation de l'un et l'autre ion, soit que l'absorption de l'un, par l'intermédiaire d'un vecteur, entraîne l'accumulation de l'autre (cf. théorie de Lundegårdh, page 15) ;

2/ la sélectivité physiologique de l'absorption : les vecteurs sont supposés spécifiques ;

3/ les phénomènes de saturation aux concentrations élevées : le nombre de vecteurs étant limité, ceux-ci sont pratiquement tous occupés à partir d'une certaine concentration extérieure.

Cependant la nature chimique des vecteurs et leur relation avec le métabolisme restent encore assez obscures. Les théories des vecteurs les plus importantes seront présentées dans l'aperçu analytique.

Il convient de signaler la parenté entre certaines théories physico-chimiques et les théories des vecteurs : par exemple, dans le modèle de Lapique, les molécules de protéines pourraient être considérées comme des vecteurs. Ces théories diffèrent cependant en deux points :

1/ les théories des vecteurs supposent toujours l'existence d'une barrière de diffusion imperméable aux ions à l'état libre, tandis que très souvent les théories physico-chimiques négligent une telle barrière ;

2/ d'après les théories physiques, l'association des ions et de leurs éventuels vecteurs serait essentiellement une réaction d'échange ne faisant intervenir que des forces d'adsorption ; de plus les ions se mouvraient dans le sens de leur gradient électrochimique. D'après les théories des vecteurs, l'association ion - vecteur serait d'un ordre plus complexe et les ions se mouvraient même en sens inverse du gradient électrochimique ; de plus ces théories ne tiennent pas compte des différences de potentiel électrique susceptibles d'exister des deux côtés de la barrière de diffusion.

III - CONCEPTIONS MODERNES

L'emploi de nouvelles techniques, et notamment l'utilisation des radioisotopes, a permis de mettre en évidence l'existence d'une absorption passive à côté des processus actifs. En effet, plusieurs chercheurs ont distingué, dans les courbes d'absorption en fonction du temps, deux phases : la première, rapide et brève, a lieu même si le métabolisme est très réduit ; la deuxième, plus lente et à vitesse constante, est sous la dépendance du métabolisme (cf. fig. 62). D'où les épithètes de "passive" et "active" données respectivement à l'absorption pendant la première et la deuxième phase. L'absorption passive serait en outre réversible et aurait lieu dans le sens du gradient de diffusion ou électrochimique, l'absorption active serait irréversible et pourrait avoir lieu contre ces gradients.

Nos connaissances des mécanismes d'absorption *passive* découlent surtout d'expériences dans lesquelles l'absorption de l'ion étudié a été suivie par une

exsorption dans différents milieux, ou de mesures de différences de potentiel électrique entre le système étudié et des solutions de différentes concentrations ioniques. Ces expériences montrent que l'absorption passive consiste essentiellement en des phénomènes de diffusion et d'échanges. Elles ont conduit à l'élaboration du concept de l'espace libre (e.l.) pour désigner les régions de l'organe ou du tissu où les ions entrent passivement. On distingue dans cet espace deux constituants : l'e.l. de l'eau où les ions entrent par diffusion, et l'e.l. d'échanges ou de Donnan, où les échanges suivent la loi de Donnan.

Les conceptions sur l'absorption *active* se sont peu modifiées. Cependant l'emploi des inhibiteurs de la respiration dans les études d'absorption, et les découvertes dans d'autres domaines du métabolisme cellulaire (respiration, synthèse des protéines etc.), ont apporté quelques précisions importantes, sur les liens entre l'absorption et le métabolisme, dont nous aurons à parler.

De plus, l'application dans les études d'absorption de méthodes d'analyse empruntées à la cinétique enzymatique a permis de mieux définir les interactions des différents ions.

A la suite des découvertes relatives à l'absorption passive, la plupart des hypothèses récentes font une synthèse entre les conceptions physico-chimiques et métaboliques de l'absorption. En résumé, ces hypothèses envisagent l'absorption comme une suite de phénomènes, les uns passifs, les autres actifs, plus ou moins liés entre eux. L'absorption passive aurait lieu dans l'espace libre que l'on situe à l'extérieur des barrières cellulaires de diffusion, l'absorption active à l'intérieur de celles-ci.

CHAPITRE II

APERÇU ANALYTIQUE DES RECHERCHES SUR L'ABSORPTION

Cet aperçu se propose de dégager les principales idées directrices des recherches de physiologie végétale sur l'absorption des ions au cours des quatre dernières décades. Tout d'abord nous exposerons brièvement les travaux des deux précurseurs, Osterhout et Hoagland, puis, dans un ordre plus ou moins géographique, ceux des autres chercheurs.

I - TRAVAUX D'OSTERHOUT et de HOAGLAND

1 - Travaux d'Osterhout

Les premiers travaux d'Osterhout concernent les effets antagonistes du Na et du Ca sur la conductivité et la perméabilité cellulaire (1911, 1912, 1918, 1921), augmentées par le Na et diminuées par le Ca. Selon une opinion plus récente (1956), ces effets se traduisent par une augmentation ou une diminution de la teneur en eau des membranes cytoplasmiques. Des expériences postérieures à 1921 sur des Algues à vacuoles géantes (*Valonia*, *Galicystis*, *Nitella*) amènent Osterhout à constater que :

1/ la teneur des vacuoles en ions organiques peut être très faible, idée contraire à celle admise en son temps ;

2/ les anions et les cations du milieu extérieur peuvent s'accumuler dans les vacuoles contre un gradient de concentration ;

3/ l'absorption est sélective (1922, 1925) ;

4/ une augmentation de la concentration ionique dans un milieu extérieur déjà concentré n'entraîne pas un accroissement proportionnel de la vitesse d'absorption (1930).

De ces observations Osterhout tire trois conclusions :

a) la théorie de Donnan ne rend pas compte des faits expérimentaux ;

b) l'accumulation des ions nécessite de l'énergie ;

c) la couche protoplasmique est probablement imperméable aux ions à l'état libre.

D'autres expériences (Osterhout et Dorcas 1925) sur l'absorption de CO_2 lui suggèrent que les ions entrent dans la cellule sous forme d'acides et de bases non dissociés. Par ailleurs, il constate sur les Algues marines *Valonia* et *Galicystis* (1925) que le pH du suc vacuolaire est inférieur à celui du milieu ambiant, résultat confirmé par Irwin (1922, 1930) sur *Nitella*, (Algue d'eau douce). Tous ces faits conduisent Osterhout et ses collaborateurs (Osterhout 1931, Jacques et Osterhout 1931, 1932 etc.) à l'hypothèse suivante : le protoplasme est le siège d'un gradient de pH, alcalin vers l'extérieur, acide vers la vacuole. L'acidité vacuolaire provient d'une sécrétion métabo-

lique de l'acide organique HA. Le cation M^+ pénètre à l'état non dissocié MOH dans la membrane cytoplasmique ; il s'y combine avec HG, le vecteur, pour former MG, complexe peu dissociable dans le protoplasme ; parvenu par diffusion dans la vacuole, MG réagit avec HA pour donner finalement M^+A^- . Ce mécanisme est commandé essentiellement par le gradient de MOH ou plus exactement par le gradient thermodynamique du produit des activités (a_{M^+} et $a_{(OH^-)}$) : tant que la valeur de ce produit sera plus élevée à l'extérieur, M^+ continuera à entrer et cela même contre son gradient de concentration.

Pour rendre compte de la sélectivité de l'absorption, Osterhout et ses collaborateurs supposent une perméabilité de la membrane variable suivant les bases. Par ailleurs, ces chercheurs illustrent ce mécanisme par de nombreux modèles de cellules artificielles (Osterhout et Stanley 1932, Osterhout 1933).

Si l'hypothèse d'Osterhout est en accord avec plusieurs résultats expérimentaux, elle n'explique cependant pas l'absorption des anions. Osterhout suggère que ceux-ci entrent par échange contre les anions A^- de la vacuole, sans toutefois en préciser le mécanisme.

En 1935, Jacques et Osterhout constatent que l'absorption de cations par *Nitella* ne suit pas toujours le sens du gradient de pH exigé par cette hypothèse. Plus tard, Osterhout, (1952), renonçant à sa théorie sur le pH, propose un nouveau mécanisme qui traduit l'hypothèse des vecteurs dans son sens le plus classique. Les ions traversent la barrière de diffusion associés à des molécules organiques, les vecteurs. Le complexe ion-vecteur se dissocie à l'intérieur de la cellule à la suite de réactions métaboliques.

Les modèles d'Osterhout n'ont pas pour autant perdu leur actualité ; plusieurs chercheurs et Osterhout lui-même, (Overstreet et Jacobson 1952, Rosemberg 1954, Osterhout 1957) les ont adaptés aux conceptions actuelles des vecteurs.

2 - Travaux de Hoagland

Les travaux classiques de Hoagland et de ses collaborateurs ont dégagé les principales lignes de recherches autour desquelles s'ordonnent les études d'absorption jusqu'à ce jour. La méthode introduite dans leurs travaux et plus tard adoptée par la plupart des chercheurs est relativement simple. Elle consiste à suivre l'absorption, en fonction de divers facteurs externes et internes : concentration, température, pH, présence d'inhibiteurs, teneur des tissus en ions ou en sucres, etc.

L'originalité de ces chercheurs tient surtout au choix du matériel expérimental et des facteurs étudiés. Leurs travaux entre 1922 et 1930 environ portent essentiellement sur l'absorption d'ions par *Nitella*. Ultérieurement (Hoagland et Broyer 1936), ils ont introduit l'emploi de racines excisées d'Orge "pauvres en sel" (low salt roots), matériel possédant, entre autres avantages, un pouvoir d'absorption rapide. Cela a permis de réduire considérablement la durée des expériences (celles réalisées avec des Algues duraient plusieurs semaines et même plusieurs mois) et ainsi de mieux analyser la variation de l'absorption sous l'influence de différents facteurs.

Les travaux de Hoagland et de ses collaborateurs (Hoagland et Davis 1923 a et b, Hoagland et coll. 1928), ont conduit, avec ceux d'Osterhout, à la découverte des cinq principales caractéristiques de l'absorption que nous avons déjà mentionnées, et qui sont à l'origine des recherches modernes.

Parmi d'autres faits importants dégagés dans leurs recherches, nous citerons :

1/ les interactions ioniques : l'absorption d'un ion donné peut varier suivant l'ion complémentaire ou la présence d'autres ions dans la solution ambiante (Hoagland et coll. 1928) ;

2/ les phénomènes d'échange (Hoagland 1923) ;

3/ la stabilité du pH du suc vacuolaire et son indépendance, sauf dans le cas de lésion, du pH du milieu extérieur (Hoagland et Davis 1923 a) ; le maintien de ce pH, lorsque la cellule a absorbé des cations ou des anions en excès, par une production ou une consommation d'acides organiques (Hoagland et Broyer 1940) ;

4/ la relation entre l'absorption et l'état physiologique du tissu (teneurs en sels et en sucre, Hoagland et Broyer 1936).

Hoagland et ses collaborateurs se sont en général abstenus de formuler un mécanisme précis de l'absorption. Par contre, ils ont mis en relief de multiples relations entre l'absorption et d'une part la composition du milieu externe, d'autre part, le métabolisme cellulaire.

II - ECOLES SUEDOISES ET IRLANDAISE

Nous envisagerons ensemble ces écoles à cause de l'affinité entre leurs deux théories principales : celle de la respiration anionique (Lundegårdh, Suède) et celle de la pompe oxydo-réductrice (Conway, Irlande).

1 - La théorie de la respiration anionique (R.A.)

Cette théorie a été formulée à la suite des travaux de Lundegårdh, dont quelques-uns ont été réalisés en collaboration avec Burström, sur :

- les relations entre l'absorption d'ions par des racines de Blé et la partie de la respiration sensible à l'ion cyanure, CN^- , et à l'oxyde de carbone CO ;

- la différence de potentiel électrique entre la zone superficielle de ces racines et le milieu ambiant.

Leurs conclusions et résultats principaux sont :

1/ le CO (action réversible à la lumière) et le CN^- inhibent l'absorption et une partie de la respiration ;

2/ les anions, mais non les cations, stimulent la respiration sensible au CO et au CN^- ;

3/ les quantités d'anions absorbés sont proportionnelles à la respiration sensible au CO et au CN^- (Lundegårdh 1937, 1940, 1949 a, Lundegårdh et Burström 1933, 1934, 1935) ;

4/ les zones superficielles des racines sont chargées négativement (Lundegårdh 1940, 1942) ; Lundegårdh en conclut qu'elles n'opposent de résistance qu'à l'entrée des anions et non à celle des cations. D'autre part, Lundegårdh considère qu'il n'est pas nécessaire de fournir séparément de l'énergie pour l'absorption de chacun des ions complémentaires : pour maintenir la neutralité électrique, l'absorption de l'un entraînera automatiquement celle de l'autre. D'où Lundegårdh conclut que seule l'absorption des anions nécessite de l'énergie.

5/ la réversibilité de l'action du CO à la lumière avait conduit Lundegårdh à soupçonner dès ses premières publications que l'enzyme de la respiration

sensible au CO, contenait du fer. Plus tard (1951, 1952), il identifie cette partie de la respiration à celle régie par le système des cytochromes, et met en évidence sa stimulation par des sels.

Partant de ces faits, Lundegårdh a formulé sa théorie de la respiration anionique. Les détails du mécanisme proposé ont été modifiés maintes fois par son auteur. La version donnée ci-dessous est conforme surtout à sa conception en 1954.

La respiration anionique est, d'après Lundegårdh, identique à la fraction de la respiration assurée par le système des cytochromes. On la distingue des autres systèmes respiratoires (ground respiration) par sa sensibilité au CO (action réversible à la lumière) et aux faibles concentrations de CN^- ($\leq 1 \text{ mM/l}$).

La respiration anionique non seulement ne peut fonctionner en l'absence d'anions, mais l'absorption de ces derniers en est une condition nécessaire. En effet, Lundegårdh pense que les électrons ne peuvent passer d'un constituant de la chaîne des cytochromes à l'autre que s'il y a passage simultané d'anions en sens inverse. Le fonctionnement de la R.A. est illustré dans la figure 1 où l'on trouvera également un des mécanismes proposés par Lundegårdh pour l'absorption des cations.

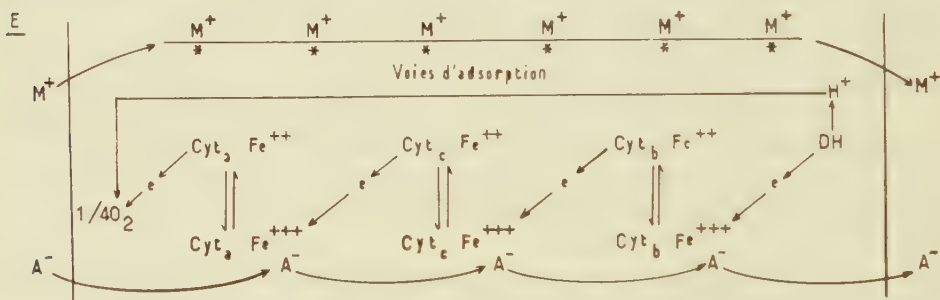


Figure 1 - Schéma de la respiration anionique d'après Lundegårdh.

L'anion A^- est capté de l'extérieur (E) par le cytochrome a (Cyt_a), au moment où celui-ci s'oxyde en passant un électron (e^-) à l'oxygène. Lorsque $\text{Cyt}_a\text{Fe}^{+++}$ est réduit à son tour par l'électron provenant de Cyt_c , l'anion passe au Cyt_a oxydé. La même opération se répète avec le Cyt_b . L'anion A^- est libéré au niveau de la succino-déhydrogénase (DH) lorsque celle-ci en s'oxydant, cède un électron à $\text{Cyt}_b\text{Fe}^{+++}$ et libère un proton qui va s'unir à l'oxygène réduit.

Le cation M^+ est adsorbé sur un ion non diffusible, localisé sur la membrane cytoplasmique ; il migre à l'intérieur en glissant sur des "voies d'adsorption" (adsorption tracks) pour se joindre à l'anion A^- .

Robertson et Wilkins (1948) ont attiré l'attention sur une des conséquences de l'hypothèse de Lundegårdh, notamment que les quotients $\frac{\text{A}^-}{\text{O}_2}$ ($\frac{\text{nombre d'anions monovalents absorbés}}{\text{nombre de molécules } \text{O}_2 \text{ consommées par la R.A.}}$), devraient être égaux à quatre, lorsque tous les anions qui participent à la R.A. proviennent de l'extérieur. Les quotients obtenus par Lundegårdh sont inférieurs à cette valeur. Pour expliquer la différence, Lundegårdh (1949 a) suppose que le système des cytochromes capte non seulement des anions de l'extérieur, mais également des anions "indigènes" ("native ions") qui s'échappent de leur lieu d'accumulation. Ce sont ces anions qui assurent le fonctionnement du système lorsque les tissus sont transférés dans un milieu qui ne contient pas de sels. La fraction de la R.A. régie par des anions "indigènes" correspond

donc, selon Lundegårdh, à la respiration anionique dans de l'eau pure. Cependant ces anions ne sont pas suffisants pour assurer le plein fonctionnement du système des cytochromes et, lorsque le matériel absorbant est transféré de l'eau pure à des solutions salines, des anions supplémentaires externes sont captés, d'où la stimulation de la respiration par les sels.

Cependant, actuellement, à part Lundegårdh lui-même peu de chercheurs soutiennent cette très ingénieuse hypothèse. Diverses objections lui sont opposées :

1/ la base expérimentale de cette théorie est douteuse : par exemple, Epstein (1954) a démontré que les cations et non seulement les anions peuvent stimuler la respiration ;

2/ certains postulats de cette théorie sont pour l'instant purement spéculatifs : par exemple, la relation entre le transport d'électrons par le système des cytochromes et un mouvement d'anions en sens inverse, n'est pas prouvée ;

3/ certaines conséquences de l'hypothèse sont en contradiction avec des faits expérimentaux : Sutcliffe et Hackett (1957) rapportent des quotients $\frac{A^-}{O_2}$ supérieurs à 4.

La théorie de la R.A. a toutefois le très grand mérite d'être la première à proposer un mécanisme d'absorption directement lié aux processus respiratoires.

2 - Travaux de Burström (Lund)

Burström collabora aux premières recherches de Lundegårdh (1933, 1934, 1935). Plus tard, il continua à s'intéresser entre autres problèmes, à l'absorption minérale et d'importantes recherches furent effectuées dans son laboratoire, notamment sur l'espace libre, sur l'absorption active et passive (Burström 1954, 1957, Butler 1953 a, b, c. Kylin 1957) et sur les relations entre l'absorption et la transpiration (Hylmö 1953, 1958).

3 - La théorie de la pompe oxydo-réductrice de Conway (Irlande)

Conway a étudié l'absorption des ions surtout par les micro-organismes et par les tissus animaux. Le mécanisme qu'il imagine est cependant général, et peut s'appliquer également aux végétaux (1951, 1953, 1954). Le point de départ de sa théorie est la considération suivante : lorsqu'un ion est transporté par un vecteur vers une région de potentiel électrochimique plus élevé, sa libération nécessite un apport d'énergie. La cellule peut fournir cette énergie soit directement par des réactions d'oxydo-réduction, soit indirectement par des liaisons phosphoriques riches en énergie. Selon Conway un mécanisme alternatif de réduction et d'oxydation des vecteurs suffit à expliquer l'absorption, et il écarte donc la deuxième possibilité.

L'hypothèse de Conway s'applique à la fois à l'absorption et à l'excrétion des ions. Nous présentons ici (figure 2) une des variantes de ce mécanisme adaptée à l'absorption des cations.

Cette théorie ressemble par certains aspects à celle de la respiration anionique de Lundegårdh. Toutes deux supposent que l'énergie nécessaire au transport d'ions provient directement d'un système d'oxydo-réduction.

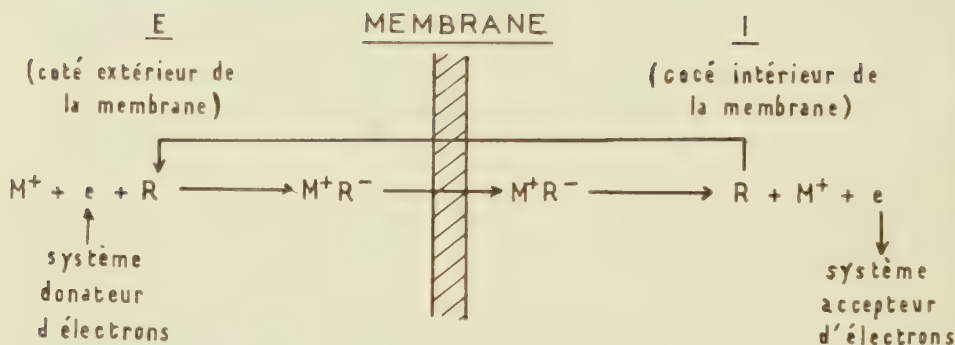


Figure 2 - Schéma du transport actif d'après Conway (modifié). Le cation M^+ de l'extérieur s'associe au vecteur oxydé R au moment où celui-ci est réduit par l'électron e . Le complexe M^+R^- traverse la membrane imperméable aux ions à l'état libre, mais perméable à R et M^+R^- . Parvenu au côté I de la membrane, R cède son électron à un accepteur d'électrons, réaction conduisant à la dissociation du complexe M^+R^- . R diffuse vers le côté E de la membrane pour recommencer le cycle, M^+ reste à l'intérieur de celle-ci où il s'y accumule.

III - ECOLES NEERLANDAISES

1 - Travaux d'Arisz ; la théorie du symplasme

Le laboratoire de Gröningen dirigé par Arisz est connu par ses nombreux travaux sur l'absorption du Cl^- par les feuilles de *Vallisneria*. Par une technique spéciale d'immersion d'une partie de la feuille (partie absorbante) dans une solution contenant des ions Cl^- , l'autre partie (libre) restant dans un milieu exempt de cet ion, Arisz et ses collaborateurs ont étudié l'influence de divers facteurs sur l'absorption du Cl et son transport dans la partie libre de la feuille (Arisz 1956 : revue des travaux réalisés jusqu'à 1955, Arisz, 1958, Arisz et Sol 1956, Arisz et Schreuder 1956, Van Lookeren Campagne 1957).

On ne considérera ici que les résultats qui amenèrent Arisz d'une part à distinguer deux mécanismes d'absorption, l'un dans le cytoplasme, l'autre dans la vacuole, et d'autre part, à formuler sa théorie du "symplasme".

Dans ses études sur l'action du KCN, Arisz a observé que :

- 1/ dans les témoins, une fraction du Cl absorbé par la partie absorbante est transférée et accumulée dans la partie libre ;
- 2/ lorsque la solution d'absorption contient du KCN, l'accumulation dans les deux parties est très réduite ;
- 3/ lorsque le milieu en contact avec la partie libre contient du KCN, les quantités de Cl dans les deux parties sont du même ordre de grandeur que celles observées pour les témoins.

Arisz interprète ces résultats ainsi : l'absorption par les feuilles de *Vallisneria* s'effectue en trois étapes :

étape I - Absorption dans les cytoplasmes des cellules adjacentes au milieu extérieur ;

étape II - Transport des ions dans les cytoplasmes des cellules qui ne sont pas en contact avec la solution d'absorption ;

étape III - Absorption dans les vacuoles cellulaires, des ions du cytoplasme.

La première étape est régie par un mécanisme distinct de celui (ou de ceux) qui assure l'absorption pendant les deux autres étapes, car elle seule est sensible au KCN. A la suite d'autres expériences effectuées avec le 2,4-dinitrophénol ou l'azoture, Arisz conclut que l'accumulation dans les vacuoles (étape III) est affectée par ces toxiques tandis que les deux autres étapes leur sont insensibles. Pour le transport d'ions (étape II), Arisz dans des travaux récents (1958, Arisz et Schreuder 1956), distingue deux voies différentes :

a) transport par les faisceaux vasculaires ; ce mécanisme serait sensible à l'azoture ;

b) transport par le "symplasma" des cellules parenchymateuses. En effet, Arisz tenant compte des plasmodesmes qui relient une cellule à l'autre, assimile l'ensemble des cellules parenchymateuses de la feuille à un symplasma. Les ions absorbés par les cellules extérieures pénètrent dans les autres cellules à travers les plasmodesmes. Le transport par cette voie ne réagit ni au KCN, ni à l'azoture, ni au dinitrophénol.

Les récentes études sur la structure de la cellule réalisées à l'aide du microscope électronique apportent un appui sérieux à la théorie du symplasma (Buvat 1957, Buvat et Puissant 1958).

2 - Travaux de Van den Honert ; l'hypothèse de la courroie (revolving belt).

Les recherches de Van den Honert (Leiden) concernent surtout l'influence de divers facteurs, comme la concentration, le pH et la température, sur l'absorption des ions par des plantes entières (1933, 1936, Van den Honert et Hooymans 1955). La technique des solutions coulantes qu'il a innovée est une des meilleures dans ce genre d'études (1933, Becking 1956).

Pour expliquer ses résultats et notamment :

- la saturation du mécanisme d'absorption pour des concentrations salines élevées,

- la similitude des relations entre l'absorption et la concentration avec celles rencontrées dans des phénomènes d'adsorption,

- la spécificité de l'absorption,

- les valeurs élevées (≥ 2) des coefficients de température (Q_{10}) des vitesses d'absorption, il a proposé le mécanisme suivant : les ions sont adsorbés sur des vecteurs spécifiques soumis à un mouvement semblable à celui d'une courroie. La courroie se charge à la surface des racines et se décharge à l'intérieur. Pour les concentrations extérieures élevées, tous les "vecteurs" (binding sites) sont occupés, d'où les phénomènes de saturation observés. La température stimule l'absorption en augmentant la vitesse de rotation de la courroie.

Historiquement les travaux de Van den Honert méritent une place importante. Van den Honert a été, en effet, un des premiers à proposer un mécanisme d'absorption régi par des vecteurs spécifiques et à inaugurer dans les études de la cinétique d'absorption des méthodes d'analyse empruntées à la chimie physique (phénomènes d'adsorption).

3 - Théories de Vervelde et de Schuffelen

Les théories de ces deux chercheurs se rattachent encore aux conceptions physiques de l'absorption.

Selon Vervelde, qui émet des doutes sur l'existence des vecteurs, seules des forces osmotiques ou électrochimiques peuvent régir l'absorption (1955). A la suite de mesures de différences de potentiel électrique entre la surface des racines et le milieu extérieur, il assimile celles-ci à un système de Donnan (1953, 1955), et à l'aide d'un raisonnement mathématique complexe (1955), il conclut que deux ions de signes différents ne peuvent être absorbés dans la même région simultanément, mais par alternance. En outre, pour expliquer un mouvement d'ions il fait appel à un gradient de pH d'origine métabolique.

D'après Schuffelen, l'absorption est un processus de diffusion dont le sens est déterminé par le gradient des activités ioniques, susceptible d'être différent de celui des concentrations. Le métabolisme abaisserait les activités ioniques dans les tissus (mais l'auteur ne précise pas par quel moyen) et ainsi conduirait à une accumulation d'ions contre le sens du gradient de concentration (Schuffelen et Loosjes 1942 a et b, 1946).

Il convient aussi de signaler certains travaux théoriques de Schuffelen et de ses collaborateurs sur l'équilibre de Donnan (Schuffelen et Middelburg 1956, Schuffelen et Bolt 1958).

Ces deux hypothèses, de Vervelde et de Schuffelen, spéculatives et très peu fondées expérimentalement, sont difficilement discutables.

IV - ECOLES ANGLO-SAXONNES

1 - Travaux de F.C. Steward (Grande Bretagne)

Steward et ses collaborateurs dans leurs nombreuses études sur l'absorption des ions par des tranches de tubercules de Pomme de terre (1932 a, b et c, Steward et Preston 1940, 1941, Steward et coll. 1940) ont constaté que les conditions les plus favorables à la croissance et à la synthèse des protéines, sont en même temps optimales pour l'absorption.

Steward en déduit une liaison entre ces phénomènes et en 1947, Steward et Street formulèrent l'hypothèse de l'absorption directement associée à la synthèse des protéines.

A la suite des travaux par d'autres chercheurs montrant que certains tissus absorbent de grandes quantités de sels sans aucune croissance apparente (Sutcliffe 1952), Steward reconsidéra le problème. Il étudia l'absorption du Cs par des cultures de tissus de Carotte en croissance et au repos (Steward et Millar 1954). Les deux types de cultures absorbaient des ions, mais elles réagissaient différemment à la concentration extérieure et aux inhibiteurs. Steward en déduisit que l'absorption s'effectue en deux étapes

La première intéresse surtout les cellules en état de division et de croissance : le mécanisme d'absorption s'intègre à celui de la synthèse protéinique, et le lieu d'accumulation est le protoplasme. La deuxième a lieu dans les cellules qui ont cessé de se diviser et de croître et le lieu d'accumulation est la vacuole.

Sans entrer dans les détails, encore assez spéculatifs, proposés par Steward, il importe de souligner son point de vue qu'on pourrait résumer ainsi : l'accumulation des ions ne peut être identifiée à une réaction spécifique, mais résulte d'un état général de la cellule qui rend celle-ci capable de synthétiser des protéines.

2 - Travaux de Sutcliffe (Grande Bretagne)

Sutcliffe est l'un des représentants de ces jeunes chercheurs qui depuis quelques années ont contribué à apporter aux phénomènes de l'absorption des données devenues rapidement classiques. Il a étudié divers aspects de l'absorption par des tranches de Betterave (1952, 1954 a et b, 1957), notamment l'absorption en fonction de différents facteurs extérieurs, les échanges et les interactions ioniques. Dans un travail récent (1960) Sutcliffe constate que le chloramphénicol, inhibiteur des synthèses protéiniques, inhibe également l'absorption. Ce résultat l'amène à développer les vues de Steward sur les liens entre l'absorption et le métabolisme des protéines.

3 - Travaux d'Overstreet et de ses collaborateurs (Etats-Unis)

Parmi les premiers travaux d'Overstreet figurent ceux effectués en collaboration avec Jenny sur l'absorption, par des racines d'Orge, d'ions adsorbés sur des colloïdes (Jenny et Overstreet 1939, Overstreet et Jenny 1939). Ces recherches leur suggérèrent l'existence d'échanges ioniques entre racines et colloïdes, par "contact direct" c'est-à-dire sans l'intermédiaire de la solution d'immersion ; (cette hypothèse a été, par la suite, largement modifiée par Overstreet lui-même (Overstreet et coll. 1942)). Nous rattacherons à ces travaux les études théoriques de Krishnamoorthy et Overstreet (1949, 1950) sur l'équilibre ionique entre les différentes phases d'un système colloïdal.

Les autres recherches d'Overstreet et de ses collaborateurs, sont la continuation directe des travaux de Hoagland sur l'absorption par des racines excisées. Elles reviennent sur des problèmes déjà abordés par Hoagland mais, en tenant compte des découvertes acquises entre temps dans le domaine de l'absorption et du métabolisme.

Ces travaux portent notamment sur :

1/ les échanges entre les racines et le milieu extérieur (Overstreet et Broyer 1940, Broyer et Overstreet 1940, Overstreet et Jacobson 1946, Jacobson et Overstreet 1947, Jacobson et coll. 1950) ;

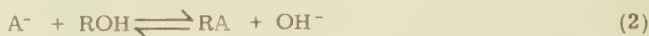
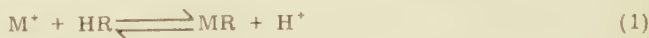
2/ l'influence de divers facteurs comme le pH et la température sur l'absorption (Jacobson et coll. 1950, 1957, Nielsen et Overstreet, 1955) ;

3/ les relations entre l'absorption et la respiration (Ordin et Jacobson 1955, Handley et Overstreet 1955) ;

4/ les relations entre l'absorption et le métabolisme des acides organiques (Jacobson et Ordin 1954, Jacobson 1955).

Dans leur étude relative à l'effet des bas pH (≤ 4) sur l'absorption et

l'exsorption du K, Jacobson, Overstreet, King et Handley (1950) ont constaté une sortie de cet ion lorsqu'il n'est pas présent dans le milieu extérieur ; ce phénomène est toutefois inhibé par la présence de K dans la solution ambiante. Ces résultats les conduisirent au schéma d'absorption suivant :



Le vecteur HR réagit avec le cation M^+ pour former le complexe MR, tandis que le proton H^+ est libéré à l'extérieur. De même l'anion A^- se combine avec ROH pour donner RA et OH^- . Les complexes MR et RA traversent le cytoplasme et se dissocient seulement à leur arrivée à la vacuole. (D'après une hypothèse plus récente (Overstreet 1957), les vecteurs d'ions feraient partie de la structure même du cytoplasme). En présence de concentrations élevées d'ions H^+ , la réaction (1) se déplace vers la gauche et le K sort ; à mesure que la concentration en K du milieu extérieur augmente, le sens de la réaction est inversé. Cette hypothèse fut appuyée par d'autres travaux montrant l'intensification de l'absorption du K lorsqu'on augmente le pH (Nielsen et Overstreet 1955, Jacobson et coll. 1957).

Cette interprétation soulève toutefois plusieurs objections et notamment la suivante : Hurd (1958) a pu démontrer que l'absorption plus grande du K à des pH élevés est due à un effet des ions carbonate présents à ces pH, plutôt qu'à un effet direct de ces derniers.

Nous sommes également redevables à Overstreet et Jacobson (1952) d'une analyse théorique de l'énergétique de l'absorption.

4 - Travaux d'Epstein et de ses collaborateurs (Etats-Unis)

Les travaux de ces chercheurs portent essentiellement sur deux aspects de l'absorption par des racines d'Orge :

1/ la cinétique de l'absorption (Epstein et Hagen ; 1952, Epstein 1953, Epstein et Leggett 1954, Leggett et Epstein 1956) ;

2/ l'espace libre (Epstein et Leggett 1954, Epstein 1955).

La principale originalité de ces recherches réside dans l'application, aux problèmes de l'absorption, des méthodes de la cinétique biochimique. Elles amenèrent leurs auteurs à conclure que l'absorption des ions en fonction de leur concentration extérieure obéit à la relation établie par Michaelis-Menten pour les réactions enzymatiques, et que les interactions entre ions appartenant à la même famille chimique, sont analogues aux inhibitions rencontrées dans des réactions enzymatiques.

Les conceptions d'Epstein sur l'espace libre sont assez proches de celles de l'école australienne ; nous en reparlerons plus loin.

5 - Travaux de l'école australienne (Robertson et ses collaborateurs)

De nombreuses études sur l'absorption minérale par des racines d'Orge et par des tranches de tissus parenchymateux ont été réalisées depuis 1940 par l'équipe australienne formée par Robertson, Hope, Honda, Milthorp etc. Quelques-unes de ces recherches ont été entreprises en collaboration avec Briggs (Cambridge, Angleterre).

Trois problèmes majeurs ont été abordés par ces chercheurs :

- 1/ les relations entre l'absorption et la respiration ;
- 2/ l'espace libre ;
- 3/ les relations ioniques dans les mitochondries.

Les relations entre l'absorption et la respiration

Robertson et coll. ont réalisé de nombreux travaux sur les relations entre l'absorption et la respiration (Robertson 1941, 1944, Robertson et Turner 1945, Robertson et Thorn 1945, Robertson et Wilkins 1948, Weeks et Robertson 1950, Milthorp et Robertson 1948, Robertson et coll. 1951). Leurs résultats, conformes à ceux de Lundegårdh, les amenèrent à intégrer dans leur hypothèse de la respiration liée aux sels (salt respiration) les grandes lignes de la théorie de la respiration anionique : les sels de la solution extérieure activent les processus respiratoires qui régissent leur propre absorption. Robertson et ses collaborateurs attribuent toutefois l'effet du sel sur la respiration aux deux ions complémentaires et non seulement aux anions. Ils donnent cependant peu de détails sur le mécanisme d'absorption proprement dit.

Robertson et Wilkins (1948) ont obtenu pour des concentrations élevées de sel des quotients :

$$\frac{\text{nombre d'équivalents de sel absorbés}}{\text{nombre de mol. g d'O}_2 \text{ consommées par la respiration liée aux sels}}$$

allant jusqu'à 4. Ces chercheurs attirent l'attention sur le fait que ce chiffre correspond à la valeur théorique du quotient maximum d'après la théorie de Lundegårdh. Ce résultat a été souvent cité en faveur des hypothèses de Lundegårdh et de Robertson. Remarquons toutefois que Robertson lui-même a émis en 1956 quelques doutes sur la validité de cet argument.

L'espace libre

Dès 1948, Briggs et Robertson ont supposé l'existence dans les tissus végétaux d'un espace librement accessible aux solutés de l'extérieur où s'effectuerait l'absorption passive (Briggs et Robertson 1948, Robertson 1951). Cet espace ne pouvant être mesuré directement, ces chercheurs ont introduit le terme d'espace libre apparent, (publié pour la première fois en 1952 dans un travail de Hope et Stevens) ainsi défini : si C est la concentration extérieure d'un soluté, originellement absent dans l'espace libre d'un tissu de volume V, et si U correspond à la quantité du soluté *estimée* y avoir pénétré (estimated free space uptake) l'espace libre apparent (e.l.a.) est égal à $\frac{U}{C.V}$.

Briggs et ses collaborateurs ont effectué de nombreux travaux relatifs aux différences de potentiel électrique entre un tissu ou organe et la solution d'électrolyte dans laquelle ceux-ci plongent (Briggs et Robertson 1948, Hope 1951, 1953, Hope et Robertson 1953, Briggs et Hope 1958). La variation observée des différences de potentiel avec la concentration extérieure les amenèrent à supposer l'existence dans les tissus d'une région *librement* accessible aux ions de l'extérieur, où des anions A⁻ non diffusibles fonctionneraient comme dans un système de Donnan.

D'autre part, Briggs et Robertson (Briggs 1957, Briggs et Robertson 1957) constatent que l'e.l.a. mesuré par l'absorption passive d'anions est inférieur à l'e.l.a. estimé d'après l'absorption passive des cations ; de plus

pour les cations l'e.l.a. varie avec la concentration extérieure. De ces faits, Briggs et coll. concluent que les cations, absorbés en excès par rapport aux anions durant l'absorption passive, sont retenus par les anions non diffusibles, A^- . Par la suite, ils distinguent donc dans l'espace libre deux composants : l'espace libre de l'eau, accessible par diffusion à tous les solutés de l'extérieur, et l'espace libre de Donnan, accessible aux cations par phénomènes d'échange.

Plusieurs études théoriques et expérimentales publiées récemment par ces chercheurs visent à évaluer la concentration de A^- et à prouver que les échanges ioniques entre la plante et l'extérieur suivent les lois de Donnan.

Relations ioniques dans les mitochondries

Selon Robertson (1951), les mitochondries fonctionneraient comme des vecteurs d'ions. Cette hypothèse dérive logiquement de celle de la respiration liée aux sels ; en effet cette fraction de la respiration serait régie par les cytochromes, localisés dans les mitochondries.

Depuis cette date plusieurs travaux ont été publiés par cette école sur les relations ioniques dans les mitochondries (Honda 1955, Robertson et coll. 1955, Honda et Robertson 1956, Honda et coll. 1958).

°
° °

Nous venons de citer quelques uns des chercheurs les plus représentatifs de la physiologie végétale s'étant intéressés à l'absorption minérale, en nous efforçant de dégager les courants principaux de recherches plutôt que de présenter les travaux de chaque chercheur individuellement. Nous sommes maintenant en mesure de tracer les grandes lignes de ces courants, en réservant leur examen critique à la "discussion générale", troisième partie de ce mémoire.

Matériel d'étude employé

Les deux précurseurs, Osterhout et Hoagland opéraient sur des Algues à cellules géantes. Ce matériel absorbe très lentement, inconvénient qui a conduit à la recherche d'autres systèmes d'étude. Par la suite, la plupart des chercheurs utilisèrent soit des racines, en particulier celles excisées d'Orge, soit des tranches minces de tissus parenchymateux. Un grand pouvoir d'absorption, la reproductibilité des résultats, l'absence de photosynthèse sont quelques-uns des avantages de ces systèmes. Ils ont toutefois l'inconvénient d'être non homogènes : les racines sont composées de cellules dont le métabolisme varie selon leur degré de développement et de différenciation ; même dans le cas des tissus parenchymateux, les cellules superficielles peuvent avoir un métabolisme différent des cellules internes.

Méthodes expérimentales

La méthode expérimentale d'Hoagland est la plus courante. Elle consiste à étudier l'absorption, et plus récemment l'exsorption, en fonction de divers facteurs externes, pH, température, temps, présence d'inhibiteurs etc.

L'analyse des résultats a pour base nos connaissances relatives à l'influence de ces différents facteurs sur d'autres systèmes physiques ou biochimiques.

Elle est restée jusqu'à présent essentiellement une méthode indirecte d'information plutôt qu'une méthode directe d'investigation.

Hypothèses en faveur actuellement

La plupart des chercheurs s'accordent à reconnaître deux types d'absorption : l'absorption active et l'absorption passive. En général on leur attribue les caractères suivants :

Absorption passive

Indépendante du métabolisme oxydatif

A lieu dans le sens du gradient de concentration ou du gradient électrochimique

Réversible, échangeable

Coefficients de température (Q_{10}) voisins de 1

De courte durée (celle-ci dépend entre autres des dimensions du système étudié ; pour des systèmes de 1 mm d'épaisseur elle n'excède pas en général 60 mn)

D'une sélectivité purement physique

Elle a lieu à l'extérieur de la barrière principale de diffusion.

Absorption active

Liée au métabolisme oxydatif

Peut avoir lieu contre le sens du gradient de concentration ou du gradient électrochimique

Irréversible, non échangeable

Coefficients de température élevés

De longue durée

Responsable de la sélectivité physiologique

Elle a lieu à l'intérieur de la barrière principale de diffusion.

Mécanismes de l'absorption passive

La conception de l'école australienne est la plus couramment admise : l'absorption passive aurait lieu dans l'espace libre de l'eau et dans l'espace libre de Donnan. Dans le premier, les solutés de l'extérieur pénètrent par diffusion. Le deuxième espace sert de voie d'accès essentiellement aux cations, par des échanges soumis aux lois de Donnan.

Mécanismes de l'absorption active

Certains caractères généraux de l'absorption active sont plus ou moins établis (nous venons d'énumérer les plus importants), mais les connaissances sur le mécanisme lui-même restent réduites. On suppose l'intervention de vecteurs mais on ignore la nature chimique de ces derniers, ou leur mode de fonctionnement. Des nombreux mécanismes spécifiques proposés, aucun n'est satisfaisant. Certains peuvent être déjà écartés, d'autres sont encore à un stade spéculatif. Cependant de nombreuses relations importantes entre absorption active et divers facteurs externes et internes ont été mises en évidence. Nous les exposerons avec plus de détails au moment de leur discussion.

DEUXIÈME PARTIE

TECHNIQUES ET MÉTHODES
RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

CHAPITRE III

TECHNIQUES ET MÉTHODES EXPÉRIMENTALES

I - OBTENTION ET PREPARATION DU MATERIEL D'EXPERIENCE

Variétés utilisées

La plupart des expériences décrites dans ce mémoire ont été effectuées sur des racines excisées d'Orge. Dans certains essais j'ai également employé des racines excisées de Blé et de Maïs. Les variétés utilisées sont respectivement, l'Orge "Rica", le Blé "Vilmorin 25" et le Maïs "I.N.R.A. 200". Les graines m'ont été délivrées par la Section de Génétique de l'I.N.R.A. à Versailles. L'âge des graines ne dépassait pas un an.

Préparation des racines excisées

Germination - Un lot de graines, d'environ 25 g, est traité par 40 ml d'eau oxygénée à 10 % (36,6 volumes) pendant 20 mn. Après rinçage à l'eau, les graines sont mises à imbiber sous l'eau courante du robinet. Au bout de 4 heures, elles sont lavées à l'eau bipermutée, puis étalées entre deux couches de papier filtre humide, enfin transférées dans une pièce obscure à température et humidité constantes (température 24°C, humidité 96 %), où la germination a lieu. Le lendemain, les graines sont étalées sur de la gaze hydrophile tendue entre deux cercles d'une bague à broder en plastique, de 20 cm de diamètre, couvertes avec du papier filtre humide et le tout est posé sur un cristallisateur de trois litres (figure 3). Le cristallisateur contient, jusqu'à 1 cm du bord, une solution de CaSO_4 10^{-4}M , préparée avec de l'eau bipermutée (la présence d'un peu de Ca dans le milieu de germination permet d'obtenir des racines plus saines et plus vigoureuses). A ses deux extrémités, la gaze dépasse les bords de la bague et plonge dans la solution, ce qui la maintient humide pendant la germination. L'aération est assurée par de l'air comprimé au moyen d'un tube qui traverse la gaze et se termine par un diffuseur. La solution est changée le cinquième jour après le début des opérations. Les racines sont excisées le septième, à un centimètre environ de leur base.⁹ Elles sont lavées abondamment à l'eau bipermutée et transférées de la pièce noire au laboratoire, dans un bécher contenant de l'eau bipermutée.

Choix des racines - Les racines d'Orge ou de Blé retenues, sont de couleur crème pâle et d'apparence saine et homogène. Leur longueur varie entre 8 et 15 cm.

De temps en temps, des racines d'Orge courtes, ondulées et couvertes de poils absorbants ont été obtenues. Les causes de ce phénomène me sont restées inconnues, et ces préparations ont été rejetées.

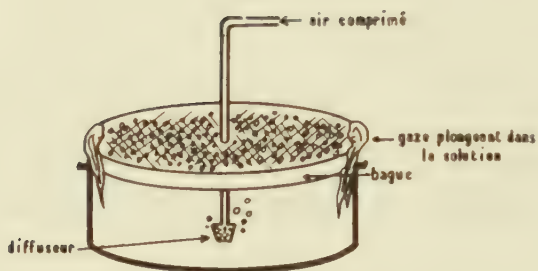


Figure 3 - Dispositif de germination pour l'obtention de racines excisées.

Dans les plantules de Maïs, la première racine primaire (prolongement de la radicule) se distingue nettement des autres. Elle est plus longue et plus épaisse, et dans sa partie plus âgée on distingue des ébauches de racines latérales. Pour employer un matériel plus homogène, seul le segment de la première racine primaire comprenant les cinq centimètres après le premier, apical, a été utilisé.

Préparation des plantules entières et de certaines racines excisées témoins

Pour comparer l'absorption par des racines excisées à celle par des racines attachées à la plante, quelques expériences sur des plantules entières et des racines excisées témoins ont été réalisées. Dans ces expériences, la technique d'obtention du matériel a dû être modifiée, celle décrite plus haut n'étant pas très appropriée à la préparation de plantules entières.

Germination - Des graines d'Orge sont mises à germer sur du papier filtre dans une pièce obscure, selon la méthode présentée plus haut. Lorsque les racines ont atteint environ 1 cm, elles sont fixées entre deux tubes de verre de 0,6 cm de diamètre et 25 cm de longueur, gainés de caoutchouc (figure 4). Les tubes sont réunis à leur extrémité par des bandes élastiques, et, pour éviter qu'ils écrasent les graines, ils sont écartés de quelques millimètres par de petits parallélépipèdes de matière plastique. Cinq paires de tubes avec 20 graines par paire, sont placés sur les bords d'un récipient rectangulaire contenant 1,5 litre de solution de CaSO_4 10^{-4} M, aérée. La solution est changée chaque jour.

Préparation du matériel germé pour les expériences d'absorption - Au 7ème jour après le début des opérations, les plantules sont libérées de leur support, et leurs racines abondamment lavées à l'eau bipermutée ; les plantules sont par la suite triées selon la longueur des racines, en trois lots, puis elles sont fixées dans des tubes de verre de 5 cm de longueur, comme l'indique la figure 5, et les tubes sont introduits dans les perforations d'un bouchon de liège (figure 6). Dans chaque bouchon on met 6 plantules 2 de chacun des trois lots.

Les bouchons sont enfin fixés sur des récipients contenant 490 ml d'eau distillé (10 ml devront y être ajoutés par la suite). Par déplacement vertical des tubes de verre porteurs des plantules, les graines sont amenées à un centimètre de la surface libre de l'eau.

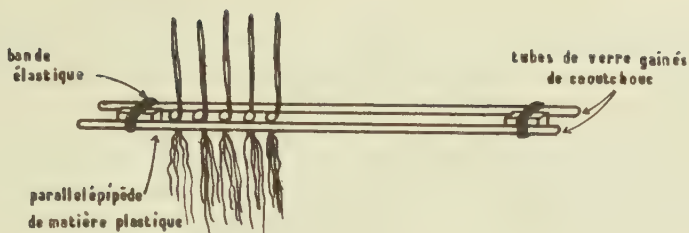


Figure 4 - Dispositif de germination pour plantules entières.



Figure 5 - Plantule fixée dans un tube de verre.

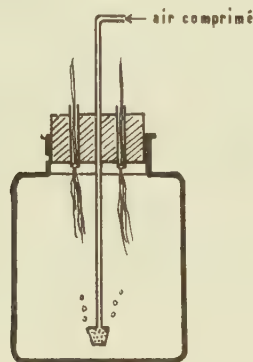


Figure 6 - Dispositif d'absorption pour plantules entières.

Dans d'autres récipients contenant également 490 ml d'eau, on dispose les racines excisées (à 2-3 mm de la graine) de 6 plantules cultivées et triées de la même manière. Ces racines ne sont attachées à aucun support, mais plongent librement dans le contenu des récipients. Ceux-ci sont alors transportés de la chambre noire au laboratoire pour les expériences d'absorption.

II - TECHNIQUES EXPERIMENTALES

Schéma général d'une expérience

Les racines sont mises à absorber dans des solutions radioactives ; à la fin de l'absorption, elles sont rapidement lavées et mises à exsorber pendant un certain temps dans un milieu non marqué, puis elles sont minéralisées. Leur pesée s'effectue en général avant la minéralisation, dans certains cas avant l'absorption.

La teneur en ions marqués des racines minéralisées correspond à l'"absorption résiduelle" (c'est-à-dire à l'absorption après exsorption). La somme des radioactivités du milieu d'exsorption d'une part et des racines minéralisées de l'autre, traduit l'"absorption brute".

Préparation et composition des solutions

Solutions d'absorption - La plupart des expériences présentées dans ce mémoire ont été effectuées avec l'ion Rb^+ . Quelques expériences ont été faites également avec les ions K^+ ou Na^+ . Les solutions sont préparées avec de l'eau bipermutée redistillée dans du pyrex. Les différents sels alcalins, chimiquement purs, sont employés sous forme de chlorures.

Les ions radioactifs utilisés sont le $^{86}\text{Rb}^+$, le $^{42}\text{K}^+$ et le $^{24}\text{Na}^+$. Les sels radioactifs, obtenus par irradiation, sont fournis par le C.E.A. de Saclay sous forme de chlorure pour le Rb, de carbonates pour le K et le Na. Ces deux derniers sels sont transformés en chlorures par addition de HCl dilué et les solutions sont évaporées à sec. Ces résidus, ainsi que le sel radioactif de Rb, sont dissous dans de petits volumes connus d'eau.

Au début de chaque expérience, on dilue une quantité appropriée de ces solutions avec une solution concentrée du même sel non marqué. Les solutions d'absorption sont préparées à partir de cette solution mère. Dans les expériences effectuées avec l'ion Rb^+ , l'activité spécifique (qui indique le rapport de l'isotope radioactif à l'isotope stable) est la même pour les différentes concentrations employées au cours d'une expérience. Toutefois, avec le ^{24}Na et le ^{42}K , dont les radiations sont très fortes, j'ai diminué l'activité spécifique des solutions en un rapport inversement proportionnel à la concentration.

En général, le nombre d'impulsions au compteur par $0,1 \mu\text{M}$ d'élément marqué, est de 500 à 2000 coups/mn. Les solutions de sels marqués sont employées sans modification du pH, situé entre 4,65 et 4,85. Le pH varie peu durant l'expérience.

Milieux d'exsorption - L'exsorption a lieu dans l'eau ou dans des solutions salines non marquées, le plus souvent des solutions de RbCl . La concentration de ces solutions est telle que la masse des cations marqués exsorbée est très faible comparée à la quantité de cations non marqués présente dans le milieu d'exsorption (rapports des deux $< 0,01$). Elle varie d'ailleurs (sauf indication contraire) avec la concentration du milieu d'absorption. Lorsque cette dernière est inférieure à 15 mM/l , celle de la solution d'exsorption est de 25 mM/l ; lorsqu'elle est supérieure, la solution d'exsorption contient 50 mM/l de sel. Ici encore les solutions d'exsorption ont été employées sans modification du pH.

Remarques générales relatives à l'étude de l'absorption et de l'exsorption

Modification des techniques expérimentales - La méthode expérimentale des essais effectués avec des racines excisées a été modifiée au cours de ce travail. Trois variantes ont été employées et seront désignées par "Techniques A, B et C". La "Technique C", la plus perfectionnée, a permis de répéter parmi les expériences réalisées avec les deux premières variantes, celles qui requéraient une plus grande précision. Les "Techniques A et B" me furent cependant utiles pour des essais préliminaires et aussi pour quelques expériences définitives exposées ultérieurement.

Minutage des manipulations - La multiplicité des opérations le long d'une expérience, leur synchronisme fréquent, et la rapidité exigée, nécessitent un minutage rigoureux des différentes manipulations et l'intervention d'une à trois aides.

Traitement des racines après leur excision - En général, les racines sont mises à absorber entre 15 et 60 mn après leur excision. Jusque là les racines plongent dans un bécher contenant 1 litre d'eau distillée aérée. Parfois des causes imprévues prolongent ce séjour, mais des expériences faites à ce sujet montrent un comportement à peu près semblable des racines utilisées entre 15 et 180 mn après leur excision.

Rapport du poids de racines au volume de la solution d'absorption - Ce rapport est conçu de telle sorte que la concentration extérieure d'absorption varie très peu durant l'expérience. Cependant, dans certains cas, notamment dans les expériences effectuées avec des concentrations faibles ($< 1 \text{ mM/l}$), il a fallu renouveler la solution pendant l'expérience, car il n'était ni possible d'employer des récipients assez grands, ni recommandé de travailler sur des lots de racines très petits. Le changement de solution s'effectue de la manière suivante : la solution où baignent les racines est décantée à l'aide d'un tuyau, dont une extrémité est reliée à une trompe à vide et l'autre est munie d'un grillage fin qui retient les racines ; puis la nouvelle solution, dont la température est réglée à l'avance, est ajoutée.

Température - Sauf indication contraire, la température d'absorption est 25°C et celle d'exsorption $1-2^{\circ}\text{C}$. On réalise cette dernière en plongeant dans un bain de glace les réceptacles dans lesquels a lieu l'exsorption.

Conduite des expériences sur des racines excisées

Technique A - Cette technique est essentiellement identique à celle décrite par Epstein et Hagen (1952). Des lots de racines d'environ 250 à 300 mg sont délicatement essuyés avec du papier filtre très mince et à larges pores (papier Joseph), pesés et placés dans des tubes à essai en pyrex (20 cm de longueur 2,5 cm de diamètre) contenant 40 à 49 ml d'eau. Les tubes sont transférés dans un bain-marie avec thermostat, et leur contenu aéré avec de l'air comprimé par un dispositif spécialement conçu pour ces expériences (figure 7). Lorsque tous les tubes sont en place, la solution radioactive est ajoutée ; si l'absorption est étudiée en présence de deux sels dont l'un seulement est marqué, le sel non marqué est ajouté d'abord et, immédiatement après, le sel radioactif. Le volume final de la solution est amené à 50 ml. Le chronométrage de l'expérience est établi de telle sorte qu'un intervalle d'une minute s'écoule entre les opérations successives d'un tube à l'autre.

A la fin de l'expérience la solution est décantée au moyen d'un tuyau relié à une trompe à vide et dont l'extrémité est munie d'un grillage fin pour retenir les racines. Le tube est rapidement rempli avec de l'eau bipermutée et on procède à une deuxième décantation. Par la suite les racines sont transférées dans les récipients contenant le milieu d'exsorption refroidi au préalable à $1-2^{\circ}\text{C}$.

L'exsorption a lieu dans des erlenmeyers à large col, contenant 40 ml de milieu d'exsorption. Sa durée est de 60 mn. A la fin de l'expérience, deux fractions de 2 ml sont prélevées dans des coupelles de comptage pour mesurer la radioactivité et la solution est décantée par la trompe à vide.

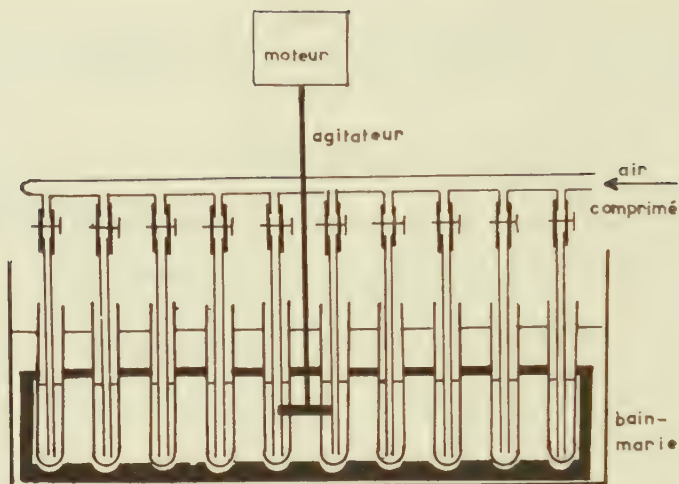


Figure 7 - Dispositif d'absorption pour racines excisées (Technique A).

Les racines sont ensuite retirées des récipients, mises à égoutter sur du papier filtre pendant une trentaine de secondes, puis transférées dans d'autres erlenmeyers de 50 ml pour la minéralisation.

Technique B - Cette méthode a été employée dans quelques expériences relatives à l'étude de l'absorption en fonction du temps, pour lesquelles il était nécessaire de disposer d'un volume plus grand de solution d'absorption.

Des récipients contenant 500 à 1000 ml de solution d'absorption sont placés dans un bain-marie à thermostat et leur contenu aéré. Après équilibration de la température, des lots de racines de 1 à 2 g sont placés dans chaque récipient. A des temps déterminés, des lots de 250 à 300 mg sont prélevés au moyen d'une pince, mis à égoutter pendant quelques secondes sur papier filtre, puis transférés pour le lavage dans un bécher de 100 ml. Ce dernier est rempli jusqu'au trois quart d'eau, agité, décanté comme précédemment, puis les racines sont transférées dans des erlenmeyers pour l'exsorption. La technique d'exsorption est identique à celle décrite dans "Technique A". A la fin de l'exsorption, les racines sont égouttées, rapidement mais délicatement essuyées avec du papier "Joseph", pesées puis minéralisées.

Technique C - Les techniques précédentes comportent deux sources principales d'erreurs : l'essuyage et le lavage, qu'évite la technique C, où le lavage est pratiqué dans des conditions bien définies, et où l'essuyage est remplacé par une centrifugation dans des conditions bien précises.

Les racines sont mises à absorber comme décrit dans "Technique B". A la fin de l'absorption ou, si l'absorption est étudiée en fonction du temps, après des durées déterminées, des lots de racines de 250 à 300 mg (quelquefois plus petits) sont prélevés au moyen d'une pince ; ils sont mis à égoutter pendant 5 sec environ sur du papier filtre, puis introduits dans des petits paniers de 3 cm de long et 2,5 de diamètre, constitués d'un treillis fin à base cellulosique, couvert d'un vernis de matière plastique. Le panier avec

les racines est plongé successivement dans deux béciers, (une fois dans le premier et deux fois dans le deuxième) contenant 75 ml d'eau refroidie à 5-6°C. L'emploi de cette température sert à atténuer le passage trop brusque de la température d'absorption (25°) à celle de l'exsorption (1-2°). Après chaque plongée le panier est essoré avec un fort mouvement de la main, puis transféré dans un tube contenant 75 ml de milieu d'exsorption refroidi au préalable. La durée totale du lavage est 5 sec.

Les tubes pour l'exsorption, en matière plastique, ont 5 cm de diamètre et 12,5 cm de hauteur. Ils sont groupés par 6 ou 8 dans des boîtes contenant de la glace. Leur contenu est aéré par un dispositif semblable à celui de la figure 7. L'aération sert principalement au brassage du liquide autour des racines.

Au bout de 60 mn, durée de l'exsorption dans la plupart des expériences, ou à des intervalles déterminés dans le cas où l'exsorption est étudiée en fonction du temps, 2 ml de liquide d'exsorption sont prélevés dans des coupelles, (en général deux prélèvements par tube) pour des mesures de radioactivité. A la fin de l'exsorption les paniers sont retirés des tubes, mis à égoutter 30 secondes sur du papier filtre, puis placés dans des tubes à centrifuger, tapissés de papier filtre. Après avoir été bouchés, les tubes sont centrifugés pendant 5 mn à 3000 t/mn à 4°C. Enfin, les racines sont retirées des paniers, pesées rapidement et transférées dans des erlenmeyers pour la minéralisation.

Conduite des expériences sur des plantules entières et certaines racines excisées témoins

Les récipients avec plantules ou racines excisées témoins, sont placés dans le bain-marie et leur contenu est aéré. Lorsque leur température est équilibrée, 10 ml de solution radioactive sont ajoutés (volume total 500 ml). A la fin de l'absorption les plantules sont dégagées des tubes de verre et leurs racines excisées à quelques millimètres de la graine. Par ailleurs, le liquide des récipients contenant les racines excisées témoins est décanté et les racines sont recueillies sur du papier filtre. Puis, les racines des deux systèmes de plantes étudiées sont lavées, mises à exsorber, pesées puis minéralisées comme dans "Technique B". Les parties aériennes des plantules entières sont coupées en petits segments puis transférées dans des erlenmeyers pour la minéralisation.

Minéralisation

Le matériel à minéraliser contenu dans chaque erlenmeyer est additionné de 8 ml environ d'acide nitrique concentré. Les récipients sont d'abord chauffés à feu doux au bain de sable jusqu'à ce que leur contenu devienne limpide, puis retirés du feu et additionnés à froid d'acide perchlorique (1 ml). Enfin les fioles sont remises au bain de sable chauffé cette fois-ci à plein feu, et ceci jusqu'à dessiccation presque totale. Le résidu refroidi est dilué dans des volumes d'eau, variables suivant la radioactivité.

Mesures de radioactivité

Les mesures de radioactivité se font au moyen d'un compteur Geiger. Un volume égal ou inférieur à 2 ml est introduit avec une pipette dans des coupelles d'aluminium de 2,5 cm de diamètre, dont le fond est tapissé d'une rondelle de papier Joseph. Deux gouttes d'une solution contenant 20 % de saccharose et 20 % de "Teepol" (détergent) sont ajoutées pour assurer, après la

dessiccation, l'adhésion du papier au fond de la coupelle. Le nombre d'impulsions enregistré par le compteur pour chaque mesure est 3 000 pour les solutions d'exsorption et 5 000 pour celles obtenues après minéralisation.

III - EXPRESSION DES RESULTATS. - NOMBRE DE REPETITIONS, ERREURS EXPERIMENTALES

Mode d'expression des résultats

Les résultats sont exprimés en micro-ion-grammes d'ions marqués, absorbés ou exsorbés par gramme de racines fraîches. Nous les désignons par μM , c'est-à-dire par un symbole "molaire" au lieu du symbole "ionique", μI , plus correct mais moins utilisé.

Il convient de définir ici quelques termes employés dans ce mémoire et pour la plupart suggérés par Monsieur R. Heller :

Absorption résiduelle - désigne la masse d'ions marqués demeurée dans les racines à la fin de l'exsorption dans de l'eau ou dans une solution saline.

Exsorption brute - correspond à la masse d'ions marqués recueillie dans le milieu d'exsorption. Il est nécessaire de la distinguer de *l'exsorption totale ou nette* qui, elle, désigne la masse totale d'ions exsorbés, c'est-à-dire celle qui reste dans le milieu extérieur augmentée de celle réabsorbée pendant l'exsorption. Dans le cas où cette réabsorption est absente ou très faible, les deux termes se confondent. Nous les désignerons alors, le plus souvent, par exsorption tout court.

Absorption brute - désigne la somme des masses d'ions correspondant à l'exsorption brute et à l'absorption résiduelle.

Absorption exsorbable - (dans l'eau ou dans une solution saline)-désigne la masse d'ions absorbés qui, par la suite, est recueillie dans le milieu d'exsorption.

Nombre de répétitions

Dans les expériences où l'exsorption (après absorption préalable) a lieu dans deux milieux différents, l'eau et la solution saline (c'est le cas pour la majorité des expériences), le nombre minimum de répétitions pour chaque traitement est 4 pour l'absorption brute et 2 pour chacune des absorptions résiduelles ou des exsorptions. Dans les autres expériences, le nombre de répétitions est en général 3. Les racines utilisées pour les différentes répétitions proviennent d'au moins deux lots mis à absorber dans des récipients différents.

La plupart des expériences ont été répétées au moins deux fois, souvent beaucoup plus, notamment pour l'étude de l'absorption en fonction du temps et de la concentration.

Erreurs expérimentales

Nous avons déjà vu les deux sources principales d'erreurs dans les expériences faites avec les techniques A et B : l'essuyage des racines avant leur pesée et leur lavage après l'absorption. En outre, j'ai souvent employé dans ces expériences des mélanges de racines qui provenaient de deux lots de graines germées simultanément mais séparément dans deux cristallisoirs

différents. Des essais sur ce point ont montré une meilleure concordance des résultats obtenus pour les diverses répétitions lorsque les racines utilisées provenaient d'un même lot. Ces trois sources d'erreurs peuvent produire des écarts assez considérables et j'ai conservé seulement les résultats d'expériences dans lesquelles les écarts pour l'absorption brute sont relativement faibles (écart absolu maximum de la moyenne ± 12 %).

Dans les expériences effectuées avec la technique C j'ai réduit ces causes d'erreurs d'une part en normalisant le lavage et en remplaçant l'essuyage par la centrifugation, d'autre part en utilisant pour une même expérience des racines provenant d'un seul lot de graines. A la suite de ces modifications, les résultats de répétitions correspondant à l'absorption brute ou aux absorptions résiduelles varient peu entre eux : les écarts absolus de la moyenne ont, en général, une valeur inférieure à ± 5 %. Les résultats des différentes répétitions des essais d'exsorption manifestent entre eux des écarts plus grands qui parfois s'élèvent à ± 10 et même 15 %. Dans la plupart des cas, les écarts relatifs à l'exsorption sont indiqués sur les tableaux des résultats.

Outre les écarts entre les répétitions d'une même expérience, il y a ceux qui se manifestent lorsqu'on répète l'expérience. Et, comme on s'en rendra compte le long de ce mémoire, le comportement des racines peut varier d'une expérience à l'autre. Je n'ai pas observé que l'âge des graines ou l'heure de la journée aient une influence. Par contre, au cours de l'année, j'ai enregistré, pour certains phénomènes, des fluctuations importantes dont je n'ai pas pu préciser la nature, et dont j'aurai à parler.

CHAPITRE IV

L'EXSORPTION

Des essais préliminaires m'avaient montré que des quantités importantes de Rb diffusaient à l'extérieur des racines d'Orge, quand celles-ci étaient transférées, du milieu d'absorption, dans de l'eau ou dans une solution de RbCl non marquée. Comme je l'ai déjà signalé, ce phénomène sera désigné par le mot "exsorption", introduit par M. R. Heller dans ses cours à la Sorbonne, -par analogie avec le mot "absorption" - pour désigner la sortie d'ions et, éventuellement d'autres substances hors des tissus. Il n'implique aucun mécanisme particulier. Pour préciser les particularités de ce phénomène, dans le cas du Rb, plusieurs expériences ont été entreprises.

Nous étudierons ici l'exsorption dans un milieu d'exsorption déterminé, après une absorption préalable, mais il est évident que l'exsorption a également lieu durant l'absorption. Inversement au cours de cette exsorption, il se produit une certaine réabsorption, sauf dans des conditions bien particulières. Rappelons que nous aurons parfois à distinguer la valeur de l'exsorption atteinte directement par l'expérience, ou exsorption brute, de l'exsorption nette, représentative de la quantité de substance effectivement sortie des racines.

Ces études sont réparties en trois séries : la première analyse le phénomène en fonction du mode opératoire et des conditions d'exsorption, la deuxième en faisant varier les conditions d'absorption préalable ; la troisième, intitulée "expériences diverses", relate quelques expériences qui auraient pu figurer dans l'une ou l'autre série, mais qui sont groupées à part, pour les commodités d'interprétation.

Nous aurons d'ailleurs à revenir sur le problème de l'exsorption dans d'autres chapitres car elle intervient dans de multiples phénomènes.

Toutes les expériences décrites ici ont été réalisées sur des racines d'Orge avec l'ion Rb⁺. Sauf indication contraire, la technique utilisée est la "Technique C". Rappelons en particulier que les racines sont mises à exsorber à une température de 1°-2° C, pendant 60 mn, après un lavage de 5 sec. Nous utiliserons les notations suivantes pour désigner des grandeurs et abréviations qui reviennent souvent dans ce chapitre :

Rb_{exs} = quantité de Rb exsorbée par gramme de racines

$Rb_{(exs\ eau)}$ = Rb_{exs} dans l'eau

$Rb_{(exs\ RbCl)}$, $Rb_{(exs\ KCl)}$ etc. = Rb_{exs} dans des solutions de RbCl, KCl etc.
non marquées

$Rb_{(exs\ RbCl - exs\ eau)}$ = différence entre $Rb_{(exs\ RbCl)}$ et $Rb_{(exs\ eau)}$

e.l. primaire (espace libre primaire) = région des racines facilement acces-

sible aux solutés extérieurs par diffusion. Ce terme est l'équivalent de l'espace libre de l'eau (water free space) utilisé par les Anglo-Saxons .

I - INFLUENCE DU MODE OPERATOIRE ET DES CONDITIONS DE L'EXSORPTION

Cette suite d'expériences a été entreprise dans un double but :

- 1/ déterminer l'influence des conditions expérimentales sur l'exsorption ;
- 2/ tenir compte de ces influences éventuelles pour la mise au point d'une technique appropriée, utilisable dans les expériences ultérieures.

1 - Influence du mode de préparation des racines

Des racines, après avoir absorbé pendant deux heures dans une solution de *RbCl de 5 mM/l, subissent selon les lots les traitements suivants , avant d'être introduites, par lots de 300 mg environ, dans des tubes à exsorption contenant 75 ml d'eau à 1° ou 2° C :

- a) essuyage avec du papier filtre mince et à larges pores (papier Joseph) ;
- b) centrifugation à 3 000 t/mn, pendant 5 mn, à 4° ;
- c) lavage rapide pendant 5 sec, selon le mode indiqué dans les "Méthodes et Techniques".

Des prélèvements du liquide d'exsorption ont été effectués après 2, 15 et 30 mn. Les résultats sont indiqués dans la figure 8.

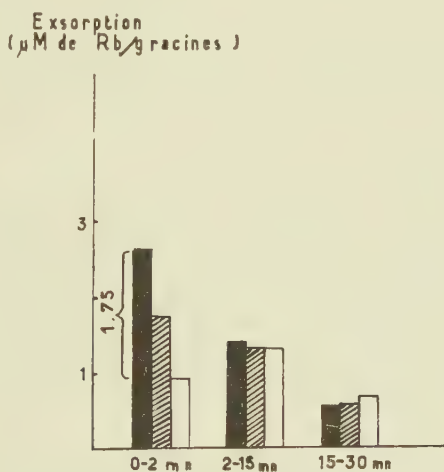


Figure 8 - Influence du mode de préparation des racines sur l'exsorption du Rb en fonction du temps.

Conditions d'absorption : *RbCl = 5 mM/l ; durée = 120 mn.

Milieu d'exsorption : eau.

■ = racines essuyées

▨ = " centrifugées

□ = " lavées.

On constate que la différence d'effet des trois traitements réside principalement dans les quantités de Rb diffusées à l'extérieur pendant les deux premières minutes : ces quantités sont plus grandes si les racines sont centrifugées, au lieu d'être lavées, et encore plus, si elles sont essuyées au lieu d'être centrifugées. Après deux minutes, les quantités exsorbées à la suite de ces divers traitements, diffèrent peu entre elles.

D'autres expériences moins précises, mais dans lesquelles le premier prélèvement était effectué après des durées d'exsorption plus courtes (30 à 60 sec) indiquaient que les trois traitements influent principalement sur les quantités exsorbées tout au début. D'où on en déduit que les traitements agissent différemment sur le rubidium le plus aisément retenu par les racines c'est-à-dire, en premier lieu, sur le rubidium de la couche liquide, adhérente à la surface des racines après l'absorption ; le lavage des racines et, ensuite, la centrifugation élimineraient cette couche plus radicalement que l'essuyage. Un calcul simple nous montre cependant que la différence entre les Rb_{ex} , correspondant à des racines lavées et essuyées n'est pas due pas uniquement à cette cause : en effet, cette différence est égale à 1,75 μM de Rb par gramme de racines ; la concentration extérieure étant de 5 mM/l, le volume de liquide d'absorption qui contient cette quantité est 0,35 ml, ce qui correspond environ à un poids de 0,35 g. Les racines n'ont été pesées qu'à la fin de l'exsorption, après centrifugation préalable. Si l'on suppose que la différence entre racines essuyées et lavées est due à la couche de liquide adhérent, un gramme de racines, pesées après l'exsorption, correspondrait à 1,35 g de racines essuyées ; la couche de liquide serait alors égale à $\frac{100 \times 35}{135}$ p. cent du poids des racines (environ 25 %).

Or il est peu probable que les racines, après essuyage, gardent une couche de liquide égale à un quart de leur poids. On doit donc conclure que les racines retiennent des ions Rb^+ aisément exsorbables, distincts de ceux de la couche liquide adhérente ; de plus, vu la rapidité de leur sortie, il serait logique de supposer que ces ions sont retenus dans les régions superficielles des racines.

De ces trois modes de préparation j'ai retenu le lavage pendant 5 sec, bien que ce traitement comporte déjà un début d'exsorption proprement dite, mais c'est là un moindre mal : non seulement l'essuyage n'enlève qu'une partie de la couche adhérente, mais aussi, quelles que soient les précautions, il n'est pas toujours uniforme, et les répétitions concordent mal entre elles. Quant à la centrifugation, elle posait des problèmes techniques qu'il n'était pas possible de résoudre dans les conditions de mon travail. Le lavage des racines à l'avantage de donner des écarts relativement faibles ; de plus, la manipulation est de courte durée, fait non négligeable à cause de la rapidité qu'exigent plusieurs opérations.

2 - Influence de la température et de la composition du milieu d'exsorption

Les résultats d'une expérience sur l'exsorption du Rb dans l'eau et dans différentes solutions salines sont consignés au tableau I. L'exsorption a été suivie à deux températures, 1°-2° C et 25° C, et mesurée après 30 et 60 mn. On constate que :

1/ à 1°-2°, les valeurs de l'exsorption brute augmentent en fonction du temps. L'exsorption pendant les 30 premières minutes est toutefois supérieure à celle qui se produit au cours des 30 minutes suivantes. Les Rb_{ex} varient, selon le milieu d'exsorption, dans l'ordre suivant :

Tableau I

Influence sur l'exsorption du milieu d'exsorption

Conditions d'absorption : $\text{RbCl} = 5 \text{ mM/l}$; durée = 180 mn. Conditions d'exsorption : concentration des solutions salines = 25 mM/l , volume = 40 ml. Résultats : μM de Rb exsorbés/g racines.

Milieu d'exsorption	Durée de l'exsorption (mn)	Température	
		1°-2°	25°
Eau pure	30	$2,12 \pm 0,31^{(1)}$	$1,53 \pm 0,12$
" "	60	$2,64 \pm 0,18$	$0,88 \pm 0,25$
Sol. de CaCl_2	30	$1,93 \pm 0,04$	$1,25 \pm 0,15$
" " "	60	$2,55 \pm 0,13$	$0,36 \pm 0,10$
Sol. de NaCl	30	$2,67 \pm 0,21$	$2,27 \pm 0,16$
" " "	60	$3,32 \pm 0,16$	$1,85 \pm 0,13$
Sol. de RbCl	30	$3,01 \pm 0,18$	$3,27 \pm 0,05$
" " "	60	$3,98 \pm 0,15$	$4,31 \pm 0,24$
Sol. de KCl	30	$2,98 \pm 0,14$	$3,16 \pm 0,22$
" "	60	$3,77 \pm 0,25$	$4,13 \pm 0,30$

(1) écart absolu de la moyenne aux répétitions extrêmes

$$\text{Rb}_{(\text{exs eau})} \approx \text{Rb}_{(\text{exs CaCl}_2)} < \text{Rb}_{(\text{exs NaCl})} < \text{Rb}_{(\text{exs RbCl})} \approx \text{Rb}_{(\text{exs KCl})}$$

2/ à 25°, les valeurs de l'exsorption brute dans l'eau et dans des solutions de CaCl_2 ou NaCl sont inférieures à celles respectivement obtenues à 1°-2° ; elles diminuent au cours du temps et varient d'un milieu à l'autre :

$$\text{Rb}_{(\text{exs CaCl}_2)} < \text{Rb}_{(\text{exs eau})} < \text{Rb}_{(\text{exs NaCl})}$$

Par contre, les $\text{Rb}_{(\text{exs RbCl})}$ et les $\text{Rb}_{(\text{exs KCl})}$ augmentent en fonction du temps et sont un peu supérieurs aux valeurs de l'exsorption dans ces milieux, à 1°-2°. Aux deux températures, les $\text{Rb}_{(\text{exs RbCl})}$ et les $\text{Rb}_{(\text{exs KCl})}$ sont du même ordre de grandeur.

Les résultats obtenus se prêtent à l'interprétation suivante :

a) Les diminutions observées à 25° pour les valeurs des $\text{Rb}_{(\text{exs eau})}$, $\text{Rb}_{(\text{exs CaCl}_2)}$ et $\text{Rb}_{(\text{exs NaCl})}$, au cours du temps, traduisent manifestement une réabsorption.

b) Cette réabsorption ne s'observe pas à 1° - 2°, indiquant ainsi que la réabsorption est un phénomène actif. Il s'ensuit qu'à cette température l'exsorption brute est à peu près égale à l'exsorption nette.

c) Cette réabsorption ne se manifeste pas non plus à 25°, dans des solutions de RbCl et de KCl . Cela tient sans doute au fait que, dans une solution de RbCl , le rapport des ions marqués exsorbés aux ions non marqués est très faible, de sorte que toute l'absorption porte principalement sur les ions de la deuxième catégorie. Le comportement presque identique de

l'exsorption dans une solution de RbCl et de KCl indiquerait, qu'au moins pour ce phénomène, le K se comporte à peu près comme le Rb.

d) A 1° - 2° , les $Rb_{(exs\ RbCl)}$ à peu près égaux aux $Rb_{(exs\ KCl)}$ (confirmation de la constatation précédente), sont supérieurs aux $Rb_{(exs\ NaCl)}$, eux-mêmes plus grands que les $Rb_{(exs\ CaCl_2)}$. Les racines distinguent donc entre l'ion Rb^+ (ou K^+) et les deux autres ions, Na^+ et Ca^{++} .

e) A 25° , les exsorptions brutes dans l'eau, et dans des solutions de NaCl, et de $CaCl_2$, varient dans l'ordre suivant :

$$Rb_{(exs\ NaCl)} > Rb_{(exs\ eau)} > Rb_{(exs\ CaCl_2)}$$

La différence tiendrait probablement à une réabsorption plus intense, là où l'exsorption brute est plus faible ; car, d'une part, nous le verrons, le Na inhibe l'absorption du Rb, et d'autre part, l'effet positif du Ca sur l'absorption des ions alcalins est un phénomène bien connu (effet Viets, Viets 1944).

f) Les $Rb_{(exs\ RbCl)}$ ou $Rb_{(exs\ KCl)}$ mesurés à 25° (la réabsorption dans ces milieux est, nous l'avons vu, très faible), sont un peu supérieurs aux valeurs correspondantes de l'exsorption à 1° - 2° . Il s'ensuit que dans ces milieux au moins, la température agit peu sur l'exsorption elle-même, et, par conséquent, celle-ci est un phénomène essentiellement passif.

La réabsorption qu'on observe à 25° dans certains milieux rend l'analyse de l'exsorption très difficile. Pour cette raison, les essais d'exsorption qui suivront ont été effectués à 1° - 2° , c'est-à-dire dans des conditions où l'exsorption brute et l'exsorption nette peuvent être confondues. Dans la plupart des cas l'exsorption est suivie dans l'eau et dans des solutions de RbCl.

3 - Influence de la durée

L'exsorption en fonction de la durée d'exsorption a été suivie en prélevant, à des temps déterminés, des portions aliquotes du liquide d'exsorption, et en mesurant leur radioactivité. Les résultats d'une expérience démonstrative sont consignés dans la figure 9. L'exsorption a été suivie dans l'eau et dans une solution de RbCl non marqué.

On constate que, dans les deux cas, les courbes présentent une première partie très curviligne : exsorption intense suivie d'une diminution rapide de la vitesse d'exsorption ; par la suite, après 20 à 40 mn environ, l'asymptote de ces courbes reste inclinée, ce qui traduit l'existence d'une deuxième phase où l'exsorption continue à vitesse à peu près constante. Durant les deux phases, les $Rb_{(exs\ RbCl)}$ sont supérieurs aux $Rb_{(exs\ eau)}$.

Ces courbes sont les plus expressives. Cependant j'ai obtenu plusieurs fois des courbes dont la partie correspondante à la phase à vitesse constante manifestait de légères ondulations (figure 10).

La forme des deux courbes de la figure 9 suggère l'existence de deux types d'exsorption différant par les mécanismes impliqués ou les régions intéressées. Nous appellerons ces deux types par convention A et B. L'exsorption dépendante de A est de courte durée et prend fin au terme de la première phase, celle dépendante de B est continue. Théoriquement, l'exsorption type B, en la supposant linéaire depuis le début, est représentée

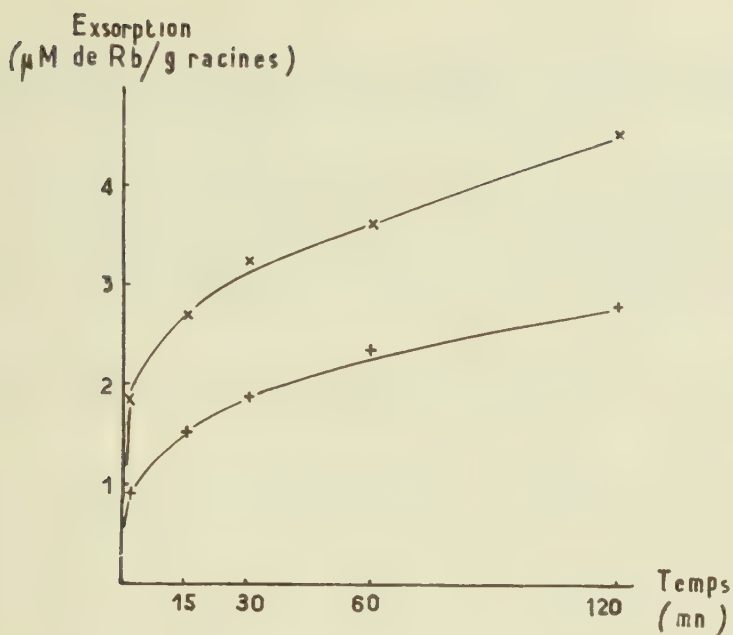


Figure 9 - Exsorption en fonction du temps
 Conditions d'absorption : $^*\text{RbCl} = 5 \text{ mM/l}$; durée = 120 mn.
 Notation : + = $\text{Rb}_{(\text{exs eau})}$
 x = $\text{Rb}_{(\text{exs RbCl})}$

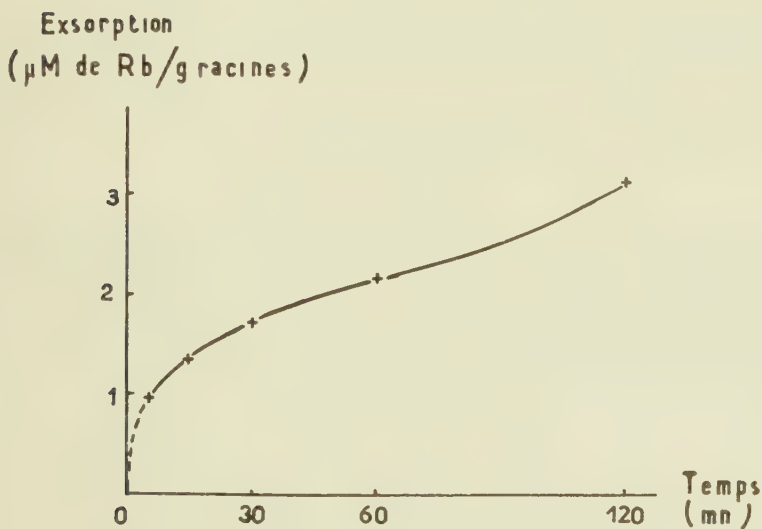


Figure 10 - Exsorption en fonction du temps (courbe ondulée)
 Conditions d'absorption : $^*\text{RbCl} = 5 \text{ mM/l}$; durée = 120 mn.
 Milieu d'exsorption : eau

par la droite passant par l'origine et parallèle à l'asymptote de la courbe expérimentale : celle de A, obtenue par différence, présente une asymptote horizontale qui a la même ordonnée à l'origine que l'asymptote expérimentale.

En pratique cette méthode est peu applicable. Les ondulations très fréquentes des courbes rendent l'extrapolation très douteuse ; même dans les courbes régulières, il n'est pas facile, du fait des erreurs d'expérience de séparer la phase curviligne de la phase linéaire. Ajoutons enfin, que nous ne possédons aucune preuve de la linéarité de l'exsorption type B dès le début.

A la suite de ces considérations il est évident que tout choix de durée fixe d'exsorption est forcément plus ou moins arbitraire. J'ai choisi, pour les expériences qui suivront, 60 mn, pour être sûre d'opérer au delà de la première phase.

Mais peut-être aurait-il été préférable d'adopter une durée d'exsorption plus courte, de 30 mn, et de considérer les quantités exsorbées pendant ce temps, comme correspondant plus ou moins au type A d'exsorption. Quoi qu'il en soit, vu la lenteur de l'exsorption pendant la phase linéaire, les erreurs éventuelles dues à ce choix n'ont pas de répercussions fondamentales dans l'analyse des résultats.

4 - Influence du rapport du poids des racines au volume d'eau

Dans les premiers essais effectués avec la "Technique C" j'avais remarqué que les valeurs des $Rb_{(ext. \rightarrow int.)}$ pouvaient accuser des écarts très importants selon le poids des racines utilisées. Le volume d'eau dans ces essais était constant. Cela m'avait inclinée à penser que le rapport du poids des racines au volume d'eau était la cause de ces variations, et, pour vérifier cette hypothèse, j'ai réalisé quelques expériences dans lesquelles j'ai fait varier ce rapport en utilisant des poids de racines à peu près constants, mais des volumes d'eau différents. Les résultats d'une expérience où le phénomène a été étudié également en fonction de la concentration extérieure d'absorption, figurent dans le tableau II.

Tableau II

Influence du rapport du volume d'eau au poids des racines, sur l'exsorption

Poids des racines = 500 mg par essai. Durée de l'absorption = 120 mn.
Résultats : μM de Rb/g racines

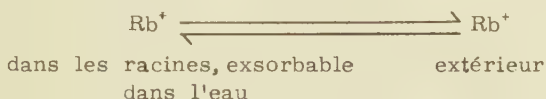
Volume d'eau (ml)	Concentration d'absorption (mM/l)			
	0, 1	1	5	10
25	1, 19 $\pm$ 0, 21 ⁽¹⁾	1, 39 $\pm$ 0, 33	2, 87 $\pm$ 0, 02	3, 33 $\pm$ 0, 36
50			3, 10 $\pm$ 0, 20	
75	1, 15 $\pm$ 0, 17	1, 95 $\pm$ 0, 18	3, 50 $\pm$ 0, 08	4, 63 $\pm$ 0, 12
100			3, 66 $\pm$ 0, 13	

(1) Ecart absolu de la moyenne aux répétitions extrêmes.

La technique de cette expérience est un peu différente de celle employée ordinairement. Avant l'absorption, les racines sont essuyées avec du papier filtre "Joseph" et pesées par lots de 500 mg environ. Chaque lot est introduit dans un récipient contenant la solution d'absorption. A la fin de l'absorption, les racines sont traitées comme d'habitude, c'est-à-dire transférées dans un panier, lavées et mises à exsorber ; à la fin de l'exsorption elles sont centrifugées, pesées et mises dans des récipients pour la minéralisation.

Les résultats obtenus montrent, qu'effectivement, l'exsorption augmente avec le volume d'eau employé, sauf pour les faibles concentrations d'absorption préalable lesquelles entraînent une plus faible exsorption.

Ils traduisent l'existence d'un équilibre entre les ions Rb^+ des racines, exsorbables dans l'eau, et les ions Rb^+ de l'extérieur.



Lorsque les racines sont transférées de la solution d'absorption dans l'eau, la réaction se déplace vers la droite, et cela d'autant plus que la concentration résultante à l'extérieur au cours de l'exsorption est faible, ou, ce qui revient au même, d'autant plus que le volume d'eau est plus grand. Lorsque celui-ci est suffisamment grand, la plupart du Rb exsorbable sort à l'extérieur, et dans ce cas une augmentation supplémentaire du volume d'eau agit peu sur l'exsorption.

Nous reviendrons à la fin de ce chapitre sur la nature de cet équilibre, mais nous pouvons déjà préciser qu'il ne s'agit pas d'un équilibre de diffusion, semblable à celui qui s'établit entre le milieu extérieur et l'e.l. primaire. Si c'était le cas, une augmentation du volume d'eau au-dessus de 25 ml aurait été à peine perceptible. En effet, en supposant la densité des racines égale à celle de l'eau, leur volume (0,5 ml), lorsque l'exsorption a lieu dans 25 ml, serait $\frac{100 \cdot \text{volume des racines}}{\text{volume total}}$ % du volume total du liquide d'exsorption, c'est-à-dire $\frac{100 \cdot 0,5}{25,5} = 1,96$ % de ce volume. Donc, même si l'e.l. primaire occupait tout le volume des racines, ce qui est évidemment faux, la quantité totale de Rb exsorbable des racines, une fois l'équilibre établi, serait au maximum 2 % du Rb exsorbé, valeur bien inférieure aux erreurs d'expérience. Donc, s'il s'agissait d'un équilibre de diffusion, les quantités exsorbées dans 25, 50 et 75 ml d'eau seraient pratiquement du même ordre de grandeur, ce qui n'est pas le cas. Une conclusion s'impose alors de ce qui précède : le Rb exsorbé dans l'eau ne provient pas uniquement de l'e.l. primaire.

Sur le plan technique, ces considérations m'ont conduite à choisir des rapports "poids de racines/vol. d'eau" tels que pour un poids donné, une augmentation du volume d'eau choisi entraîne très peu d'exsorption supplémentaire. Ces rapports sont les suivants : pour des concentrations d'absorption égales ou inférieures à 10 mM/l, 75 ml d'eau par 200 à 300 mg de racines ; pour des concentrations supérieures à 10 mM/l, 100 à 200 mg de racines pour ce même volume d'eau.

5 - Influence de la concentration extérieure en RbCl

Pour connaître la variation des $Rb_{(exs\ RbCl)}$ en fonction de la concentration de la solution d'exsorption, j'ai effectué une expérience dans laquelle je fais varier la concentration en RbCl, tant dans le milieu d'absorption que dans celui de l'exsorption. Les résultats figurent dans le tableau III. Les faits suivants se dégagent de cette expérience :

1/ les valeurs de l'exsorption sont essentiellement fonction de la concentration d'absorption ;

2/ elles varient peu avec la concentration d'exsorption, sauf :

- aux concentrations d'exsorption de l'ordre de celles de l'absorption ou plus faibles (lignes 0, 1, 1, et 10) ;

- aux concentrations d'exsorption nettement plus élevées (lignes 10 et 20 pour 50 et 80 mM/l de RbCl dans la solution d'exsorption).

Les valeurs plus faibles obtenues, pour des concentrations en RbCl du milieu d'exsorption égales ou inférieures à celles du milieu d'absorption, tiennent peut-être au fait que le rapport des ions non marqués aux ions exsorbables marqués n'est pas suffisamment grand pour que ces derniers soient remplacés par les ions non marqués. Quant à la stimulation de l'exsorption par des concentrations en RbCl nettement élevées, il s'agirait peut-être d'un effet spécifique de ces concentrations sur l'exsorption.

A la suite de ces essais les concentrations suivantes en RbCl, dans le milieu d'exsorption, ont été employées : 25 mM/l pour les concentrations d'absorption égales ou inférieures à 15 mM/l ; 50 mM/l pour des concentrations d'absorption allant de 16 à 50 mM/l.

II - INFLUENCE DES CONDITIONS D'ABSORPTION PREALABLE SUR L'EXSORPTION

1 - Influence de la durée d'absorption

a - Absorption à 25° C

Les résultats d'une expérience démonstrative sont consignés à la figure 11. Les courbes représentées montrent que l'absorption du Rb ultérieurement exsorbé est au départ très rapide ; sa vitesse diminue par la suite et tend à devenir nulle, de sorte qu'après 30 à 60 mn d'absorption, les $Rb_{(exs)}$ sont aux erreurs d'expérience près, constants et indépendants de la durée d'absorption. Cela est valable aussi bien pour les $Rb_{(exs\ eau)}$ que pour les $Rb_{(exs\ RbCl)}$. On constate également que les $Rb_{(exs\ RbCl)}$ sont supérieurs aux $Rb_{(exs\ eau)}$ et cela, dès le début de l'absorption. Les différences $Rb_{(exs\ RbCl) - exs\ eau}$ augmentent avec la durée, pour devenir, elles aussi, constantes au bout d'une heure d'absorption.

b - Variations en fonction de la température

Les résultats d'une expérience expressive sont présentés dans la figure 12. Les températures d'absorption sont 5°, 14° et 25°. A toutes les températures, les courbes d'exsorption en fonction de la durée d'absorption, ont l'allure de celles décrites dans la figure précédente, c'est-à-dire qu'elles sont curvilignes et atteignent leur asymptote horizontale après 30 mn. (Dans

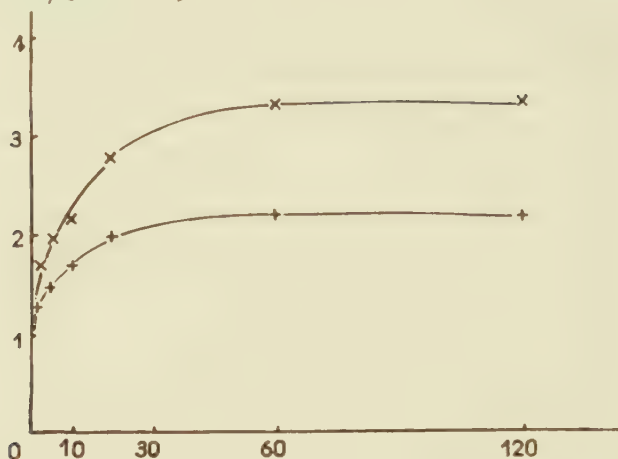
Tableau III

Influence sur l'exsorption de la concentration en RbCl de la solution d'absorption et de celle d'exsorption

Durée de l'absorption = 120 mn. Résultats : μ M de Rb/g racines

Conc. de la solution d'absorption (mM/l)	Concentration de la solution d'exsorption (mM/l)									
	0,1	1	5	10	20	25	50	80		
0,1	1,89 $\pm$ 0,04	2,05 $\pm$ 0,12		2,22 $\pm$ 0,09		2,13 $\pm$ 0,13				
1	2,53 $\pm$ 0,29	3,33 $\pm$ 0,16		3,45 $\pm$ 0,04		3,56 $\pm$ 0,17				
10			5,55 $\pm$ 0,12	6,14 $\pm$ 0,06		5,84 $\pm$ 0,23	6,93 $\pm$ 0,19	7,45 $\pm$ 0,31		
20					8,53 $\pm$ 0,64		9,00 $\pm$ 0,87	9,67 $\pm$ 0,55		
50							17,23 $\pm$ 1,31	16,46 $\pm$ 0,65		

Exsorption
(μM de Rb/g racines)

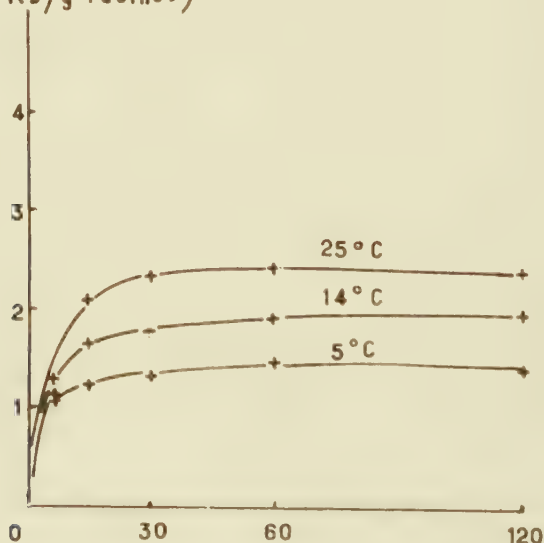


Durée d'absorption préalable
(mn)

Figure 11 - Exsorption en fonction de la durée d'absorption préalable.
Conditions d'absorption : $^*\text{RbCl} = 5 \text{ mM/l}$.

Notations: $+$ = $\text{Rb}_{(\text{exs eau})}$
 $\times$ = $\text{Rb}_{(\text{exs RbCl})}$.

Exsorption
(μM de Rb/g racines)



Durée d'absorption préalable
(mn)

Figure 12 - Exsorption en fonction de la durée d'absorption préalable, à différentes températures.

Conditions d'absorption : $^*\text{RbCl} = 5 \text{ mM/l}$

Milieu d'exsorption : eau.

certaines expériences effectuées à basse température, les courbes n'atteignent leur asymptote horizontale qu'après des durées plus longues allant jusqu'à 120 mn). Les quantités exsorbées augmentent toutefois en fonction de la température. Cette augmentation ne devient nette qu'après les six premières minutes, ce qui implique que l'effet de la température d'absorption sur l'exsorption ultérieure est faible pendant le début de l'absorption, mais devient plus marqué par la suite.

Il ressort deux faits essentiels de ces expériences :

1/ l'absorption des ions exsorbables est de courte durée ;

2/ l'absorption de ces ions consiste en des phénomènes passifs et *actifs*; ces derniers ne se manifestent qu'après les premières minutes d'absorption.

2 - Influence de la concentration

a - Absorption à 25° C

Les résultats de deux expériences d'exsorption en fonction de la concentration du milieu d'absorption préalable sont présentés respectivement dans la figure 13 et le tableau IV.

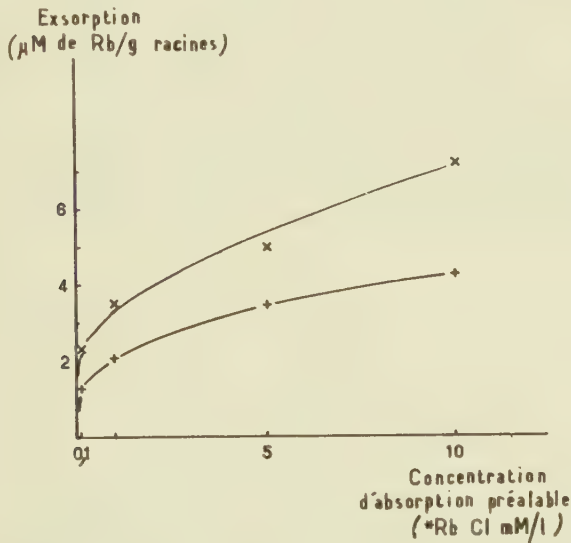


Figure 13 - Exsorption en fonction de la concentration d'absorption préalable.
Durée de l'absorption = 120 mn.

Notations : + = Rb_(exs eau)
x = Rb_(exs RbCl).

On constate que les quantités exsorbées, soit dans l'eau, soit dans une solution de RbCl, croissent avec la concentration de la solution d'absorption. L'augmentation est toutefois relativement plus grande pour les faibles concentrations : la pente des courbes de la figure 13 diminue au fur et à mesure que la concentration s'élève ; par ailleurs, les deux dernières colonnes

du tableau IV montrent que le rapport des Rb_{ex} , à la concentration extérieure baisse quant cette dernière augmente.

Tableau IV

Exsorption en fonction de la concentration d'absorption préalable

Durée de l'absorption = 180 mn.

Concentration d'absorption (mM/l)	Exsorption (μM de Rb/g racines)		Rapport de la masse exsorbée ($\mu M/g$ racines) à la concentration extérieure ($\mu M/ml$)	
	eau	RbCl	eau	RbCl
0.2	1.32 ± 0.17	2.76 ± 0.22	6.60	13.8
1	1.90 ± 0.19	3.48 ± 0.31	1.90	3.48
5	3.22 ± 0.01	4.68 ± 0.18	0.64	0.94
10	4.24 ± 0.38	6.40 ± 0.04	0.42	0.64
20	6.16 ± 0.06	8.20 ± 0.35	0.31	0.41

b - Variations en fonction de la température

Les résultats d'une expérience typique figurent dans le tableau V. Ces résultats indiquent une influence positive de la température d'absorption sur les quantités ultérieurement exsorbées et cela dans toutes les concentrations employées.

Tableau V

Exsorption en fonction de la température et de la concentration d'absorption préalable

Durée de l'absorption = 150 mn.

Concentration d'absorption (mM/l)	Température (°C)	Exsorption μM de Rb/g racines		Q_{10} de l'absorption des		
		eau	RbCl	$Rb_{(exs\ eau)}$	$Rb_{(exs\ RbCl)}$	$Rb_{(exs\ RbCl - exs\ eau)}$
0,1	0	$0,30 \pm 0,08$	$0,41 \pm 0,10$	1.74	1.91	2.24
"	25	$1,10 \pm 0,03$	$2,08 \pm 0,11$			
1	0	$0,75 \pm 0,22$	$1,05 \pm 0,19$	1.43	1.58	1.89
"	25	$1,85 \pm 0,15$	$3,33 \pm 0,21$			
10	0	$2,87 \pm 0,13$	$3,72 \pm 0,18$	1.21	1.26	1.42
"	25	$4,63 \pm 0,32$	$6,65 \pm 0,29$			

L'effet de ce facteur est cependant variable selon la concentration du milieu d'absorption ; il est plus grand pour les faibles concentrations : les Q_{10} diminuent à mesure que la concentration s'élève.

Notons aussi que les Q_{10} de l'absorption des différences $Rb_{(exs\ RbCl - exs\ eau)}$ sont un peu supérieurs à ceux des $Rb_{(exs\ eau)}$.

Les expériences ci-dessus amènent aux conclusions suivantes :

1/ Une preuve supplémentaire est apportée à l'hypothèse émise plus haut selon laquelle les $Rb_{(exs\ eau)}$ ne proviennent pas uniquement de l'e.l. primaire, mais également d'autres régions. Le tableau IV montre que le rapport de la masse exsorbée dans l'eau, à la concentration de la solution d'absorption, varie avec cette dernière. Multiplié par cent, ce rapport mesure l'e.l. apparent exprimé en pourcentage du poids des racines. Or, les valeurs de cet espace ne sont pas constantes (de 660 % à 31 %) et dépassent 100 % lorsque les concentrations sont faibles. Il nous est donc impossible d'admettre que les $Rb_{(exs\ eau)}$ proviennent uniquement de l'e.l. primaire.

Il y a lieu de souligner que ces conclusions sont valables même pour les essais effectués à 0° : l'e.l. apparent calculé à partir de 1er essai (tableau V) s'élève à 300 % ; il s'ensuit que, même dans des conditions où le métabolisme est très réduit, une partie du Rb exsorbé dans l'eau est absorbée dans des régions différentes de l'e.l. primaire.

2/ Il n'est pas possible dans ces conditions de mesurer l'e.l. primaire directement d'après les quantités exsorbées dans l'eau. Les relations entre ces quantités et la concentration extérieure nous fournissent toutefois quelques indications sur la valeur de cet espace.

Dans la figure 14 j'ai tracé une série de courbes représentant les valeurs des $Rb_{(exs\ eau)}$ diminuées d'une quantité de Rb correspondant à des e.l. de 0, 10, 20 et 30 %, en fonction de la concentration d'absorption. Ces

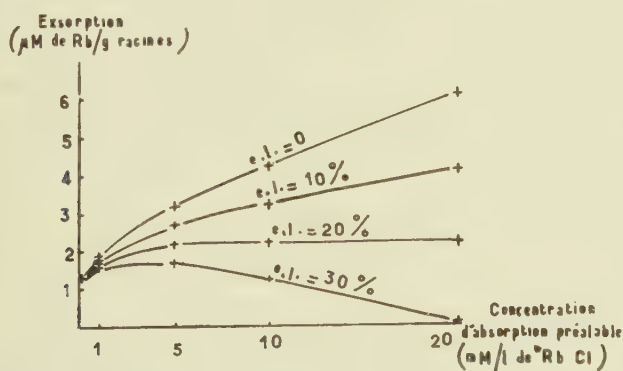


Figure 14 - Exsorption en fonction de la concentration d'absorption préalable. Les $Rb_{(exs\ eau)}$ sont diminués de quantités de Rb contenues respectivement dans des e.l. primaires supposés égaux à 0, 10, 20, et 30 %. Données expérimentales tirées du tableau IV, 2ème colonne.

courbes représentent donc, les valeurs hypothétiques du Rb exsorbé dans l'eau, absorbé par des mécanismes différents de la diffusion dans l'e.l. primaire, lorsqu'on évalue cet espace à 0, 10, 20 ou 30 % du volume des racines. Dans le cas où l'e.l. est estimé à 0 ou 10 %, ces valeurs augmentent avec la concentration d'absorption ; lorsqu'il est évalué à 20 %, elles augmentent d'abord, puis diminuent légèrement à partir de 10 mM/l de RbCl, tandis que lorsqu'il est égal à 30 %, elles décroissent considérablement à partir de 5 mM/l de RbCl, dans la solution d'absorption. Puisque les $Rb_{(exs\ eau)}$ absorbés par d'autres mécanismes que la diffusion, ne diminuent sans doute pas en fonction de la concentration d'absorption, il s'ensuit que l'e.l. primaire est inférieur à 20 %. Ces considérations supposent évidemment une relation constante entre la valeur de l'e.l. primaire et la concentration extérieure.

3/ La diminution des Q_{10} de l'absorption des Rb_{exs} , lorsqu'on augmente la concentration (tableau V) indique que la fraction du Rb exsorbé, absorbé par des mécanismes passifs, augmente avec la concentration. Ce phénomène peut être expliqué ainsi : l'absorption des Rb_{exs} , par un des mécanismes passifs, diffusion dans l'e.l. primaire, est directement proportionnelle à la concentration extérieure, à la différence de l'absorption par d'autres mécanismes, dont les mécanismes actifs, pour lesquels la variation des Rb_{exs} , en fonction de la concentration extérieure, $\frac{d Rb_{exs}}{d\ conc.}$, devient moins importante à mesure que cette dernière augmente.

III - EXPERIENCES DIVERSES

1 - Influence d'un changement de température au cours de l'absorption sur l'exsorption ultérieure

Les quantités exsorbées dans l'eau ou dans une solution de RbCl augmentent, nous venons de le voir, avec la température d'absorption. Dans l'expérience suivante, on se propose d'étudier la variation des $Rb_{(exs\ eau)}$ lorsqu'on passe d'une température d'absorption élevée à une autre plus basse.

Des racines ont été mises à absorber dans 5 mM/l de $RbCl$ à 14° et à 30°. Les premières subissent une exsorption dans l'eau après 120 (1) et 255 mn (2)⁽¹⁾. Le lot des racines ayant absorbé à 30° est divisé après 120 mn en 4 parties. La première est mise directement à exsorber dans l'eau (3) ; la deuxième subit ce traitement après 130 mn supplémentaires à 30° (4) ; la troisième est transférée dans une solution de 5 mM/l de $RbCl$ à 0° : une partie est mise à exsorber dans l'eau après 70 mn (5) et une autre, après 133 mn (6) ; la quatrième partie a été mise dans une solution de $RbCl$ à 14° : la moitié de ces racines subit une exsorption dans l'eau après 70 mn (7) et le reste après 135 mn (8).

Les résultats figurent dans le tableau VI. On retrouve quelques uns des résultats obtenus plus haut : les quantités exsorbées augmentent avec la température d'absorption (1 et 3), et elles restent constantes indépendamment de la durée d'absorption (1 et 2, 3 et 4).

(1) Les chiffres entre parenthèses correspondent à ceux du tableau VI.

Tableau VI

Influence du transfert des racines, au cours de l'absorption, d'une température à une autre, sur l'exsorption ultérieure

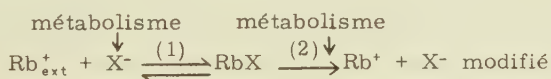
Conditions d'absorption : $^*\text{RbCl}$ = 5 mM/l. Milieu d'exsorption : eau. Résultats : μM de Rb/g racines.

Conditions d'absorption	Exsorption
(1) 120 mn à 14°	1,69 ± 0,12
(2) 255 mn à 14°	1,79 ± 0,20
(3) 120 mn à 30°	2,54 ± 0,26
(4) 250 mn à 30°	2,46 ± 0,10
(5) 120 mn à 30° puis 70 mn à 0°	2,60 ± 0,15
(6) 120 mn à 30° puis 133 mn à 0°	2,41 ± 0,17
(7) 120 mn à 30° puis 70 mn à 14°	2,29 ± 0,05
(8) 120 mn à 30° puis 135 mn à 14°	1,94 ± 0,11

En ce qui concerne l'influence du transfert d'une température d'absorption à une autre sur les quantités ultérieurement exsorbées, on constate que, lorsqu'on passe de 30° à 14°, les quantités exsorbées diminuent en fonction de la durée d'absorption à la deuxième température (3, 7 et 8), et deviennent voisines des quantités exsorbées par les racines absorbant à 14° dès le début. Lorsqu'on passe de 30° à 0° (5 et 6), il en est tout autrement : les quantités exsorbées ne sont absolument pas affectées par ce traitement.

Ces faits ont été observés dans toutes les expériences du même type. Tandis que les $\text{Rb}_{(\text{exs eau})}$ ou $\text{Rb}_{(\text{exs RbCl})}$ diminuaient en passant d'une température d'absorption de 25° ou 30° à une autre température entre 10° et 15°, ils restaient au même niveau lorsque la deuxième température était voisine de 0°. Cette observation n'est valable que pour des séjours de moins de 150 mn à la deuxième température.

Ces résultats se prêtent à l'interprétation suivante. Une partie du Rb exsorbable est, comme on l'a vu, absorbée par intervention du métabolisme. On supposera que la réaction en cause est la suivante :



A la suite d'une intervention métabolique il se forme des unités d'absorption X^- , dont la quantité dépend du métabolisme. Ces unités s'associent avec le Rb^+ de l'extérieur pour donner le complexe RbX . La réaction est, de plus, supposée réversible. Par la suite, une deuxième réaction, elle aussi dépendante du métabolisme, par conséquent de la température, mène à la destruction du complexe. L'état de régime de cette chaîne de réactions s'établit de 30 à 60 minutes après le début de l'absorption. Il s'ensuit qu'à chaque température correspond une quantité du complexe RbX caractéristique. Lorsqu'on passe d'une température élevée à une autre plus basse, la quantité de

complexe en excès sur celle correspondant à la deuxième température disparaît progressivement. Lorsque la deuxième température est voisine de 0° , la disparition de cet excès est, à cause du métabolisme réduit, très lente et non perceptible dans les racines qui ont séjourné quelque temps à cette température.

A propos de ce schéma, on pourrait se demander si la réaction (2) ne conduit pas à l'absorption irréversible du Rb. Il ne nous est toutefois pas possible de répondre à cette question.

2 - Influence d'un séjour dans l'eau, après absorption préalable, sur l'exsorption dans une solution de RbCl

Les deux expériences ci-dessous m'ont été suggérées par l'observation suivante : un séjour relativement court des racines dans l'eau (après absorption préalable) modifie sensiblement l'exsorption dans une solution de RbCl non marqué.

Dans la première expérience, des racines ayant absorbé pendant 3 heures dans 2 mM/l de $^{86}\text{RbCl}$ sont mises à exsorber dans les conditions suivantes⁽¹⁾ :

- 1/ 30 mn dans l'eau
- 2/ 30 mn dans une solution de RbCl.
- 3/ 60 mn dans l'eau
- 4/ 30 mn dans l'eau puis 30 mn dans une solution de RbCl.

Dans la deuxième expérience, les racines qui ont absorbé dans des conditions identiques à celles de l'expérience précédente, subissent des périodes d'exsorption dans les conditions suivantes :

- 1/ 60 mn dans l'eau
- 2/ 60 mn dans une solution de RbCl
- 3/ 60 mn dans l'eau à 21° , puis 60 mn dans l'eau à 1° - 2°
- 4/ 60 mn dans l'eau à 21° , puis 60 mn dans une solution de RbCl à 1° - 2° .

Les résultats de ces expériences sont présentés dans les figures 15 et 16. Dans la première expérience, la différence $\text{Rb}_{(\text{exs RbCl}) - \text{exs eau}}$ pour les premières 30 mn est de $1,20 \mu\text{M/g}$ racines. Lorsque les racines séjournent dans l'eau pendant 30 mn, puis sont mises à exsorber dans une solution de RbCl, la différence $\text{Rb}_{(\text{exs RbCl}) - \text{exs eau}}$, pour les 30 mn suivantes, est seulement de $0,47 \mu\text{M/g}$ racines. Donc, une partie du Rb qui serait exsorbé, si les racines étaient mises dès le début dans une solution de RbCl, est passée à l'état non exsorbable pendant le séjour des racines dans l'eau, et cela, malgré une température du prétraitement voisine de 0° .

Ce phénomène est encore plus marqué dans la deuxième expérience, probablement à cause de la durée plus longue et de la température plus élevée du séjour dans l'eau. La différence $\text{Rb}_{(\text{exs RbCl}) - \text{exs eau}}$ des témoins est de 1,99, et celle des racines mises d'abord dans l'eau à 21° , de $0,61 \mu\text{M/g}$ racines.

(1) La température d'exsorption est, sauf indication contraire, 1° - 2° .

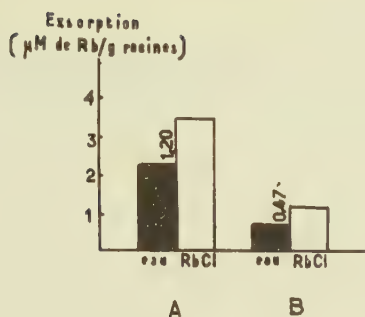


Figure 15 - Influence d'un séjour dans l'eau, après absorption préalable, sur l'exsorption ultérieure dans une solution de RbCl.

Conditions d'absorption : $^*\text{RbCl} = 2 \text{ mM/l}$; durée = 120 mn.

Conditions d'un séjour dans l'eau : 30 mn, à $1^\circ\text{-}2^\circ$.

Durée de l'exsorption = 30 mn.

A : l'exsorption a lieu immédiatement après l'absorption

B : l'exsorption a lieu après le séjour dans l'eau.

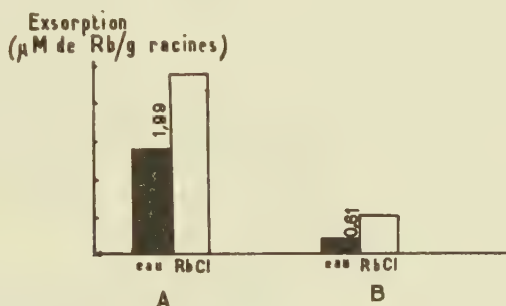


Figure 16 - Influence d'un séjour dans l'eau, après absorption préalable, sur l'exsorption ultérieure dans une solution de RbCl.

Conditions d'absorption : $^*\text{RbCl} = 2 \text{ mM/l}$; durée = 120 mn.

Conditions du séjour dans l'eau : 60 mn à 21° .

Durée de l'exsorption = 60 mn.

A et B : significations identiques à celles de la figure 15.

3 - Influence d'un séjour dans une atmosphère saturée d'humidité sur l'exsorption

Des racines, après une absorption de trois heures dans 2 mM/l de $^*\text{RbCl}$, ont été rapidement lavées (5 sec), placées pendant 60 mn dans une atmosphère saturée d'humidité à 25° , et puis mises à exsorber dans l'eau ou dans une solution de RbCl. Le tableau VII présente les Rb_{exs} de ces racines et ceux des témoins (racines mises à exsorber directement après absorption). On constate que les $\text{Rb}_{(\text{exs eau})}$ et les $\text{Rb}_{(\text{exs RbCl})}$ sont réduits par ce traitement, autrement dit, ce dernier induit une fixation partielle de Rb exsorbable dans l'eau et dans une solution de RbCl. La différence entre racines témoins et traitées est plus grande, si l'exsorption a lieu dans une solution de RbCl. Il convient de remarquer que les quantités fixées sont supé-

rieures à celles du Rb contenu dans l'e.l. primaire, évalué à 20 % du volume des racines : pour une solution d'absorption de 2 mM/l de $^{86}\text{RbCl}$, le Rb dans l'e.l. primaire serait égal à 0,4 $\mu\text{M/g}$ racines, tandis que les quantités fixées sont 0,75 μM (exs eau) et 1,34 μM (exs RbCl).

Tableau VII

Influence d'un séjour dans une atmosphère saturée d'humidité, après absorption préalable, sur l'exsorption ultérieure

Condition d'absorption : $^{86}\text{RbCl}$ = 2 mM/l ; durée = 180 mn. Durée du séjour en atmosphère humide = 60 mn. Résultats : μM de RbCl/g racines.

Traitement	Exsorption	
	eau	RbCl
-	2.30 ± 0.12	3.35 ± 0.07
+	1.55 ± 0.22	2.01 ± 0.36
Différence	0.75 ± 0.34	1.34 ± 0.43

IV - DISCUSSION

Au terme de ce chapitre, consacré à l'exsorption, nous voudrions revenir sur quelques uns des problèmes soulevés, en nous limitant à ceux qui concernent la première phase, rapide, que nous avons mis en évidence. Nous aurons à revenir sur l'exsorption lente et prolongée, caractéristique de la deuxième phase, dans la discussion générale.

1/ Des valeurs élevées, obtenues pour les e.l. apparents, calculés à partir des masses de Rb exsorbées dans l'eau ou dans une solution de RbCl , nous avons conclu que les $\text{Rb}_{(\text{exs eau})}$ et les $\text{Rb}_{(\text{exs RbCl})}$ proviennent non seulement de l'e.l. primaire, mais d'autres régions également.

2/ Ces ions exsorbés, ne provenant pas de l'e.l. primaire, sont-ils réversiblement absorbés, ou bien les conditions d'exsorption (milieu, température) par leur action sur la principale barrière de diffusion, provoquent-elles une sortie d'ions irréversiblement absorbés.

La plupart de nos essais d'exsorption ayant été conduits à 1°-2° dans de l'eau ou dans une solution de RbCl , nous examinerons successivement les effets éventuels de la basse température, de l'eau ou de la solution de RbCl , sur les barrières de diffusion.

Lorsque les racines, au cours de l'absorption, sont transférées de 30° à 0°, les quantités ultérieurement exsorbées sont du même ordre de grandeur que celles de racines mises à exsorber immédiatement après l'absorption à 30° (tableau VI). Cela signifierait que la basse température, par elle-même, altère peu l'état des racines, au moins du point de vue exsorption.

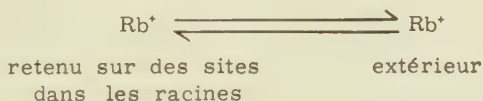
Quant à l'exsorption dans l'eau, il est peu probable que ce milieu, pendant les courtes durées de l'exsorption, entraîne des modifications importantes dans les barrières de diffusion, à cause de la basse température précisément. Par conséquent, bien que nous ne puissions l'affirmer avec certi-

tude, il nous paraît plausible que l'exsorption dans l'eau reflète d'une certaine manière une absorption réversible.

Au sujet de l'exsorption dans une solution de RbCl : d'une part, ce sel est présent dans le milieu d'absorption ; d'autre part, la concentration du milieu d'exsorption a été choisie de telle sorte que les quantités exsorbées soient à peu près équivalentes à celles qui passent à l'extérieur, lorsque la composition du milieu d'exsorption est identique au milieu d'absorption (tableau III). Ainsi, une modification de l'état physiologique des barrières de diffusion au cours de l'exsorption nous semble peu probable, donc les ions exsorbés seraient réversiblement absorbés. Les valeurs des $\text{Rb}_{(\text{exs } \text{RbCl})}$ supérieures à celles des $\text{Rb}_{(\text{exs } \text{eau})}$ indiqueraient qu'une partie des ions exsorbés dans une solution de RbCl , le serait à la suite d'échanges.

Ceci dit, il faut tenir compte de l'état extrêmement labile du Rb exsorbable, qui peut passer à l'état non exsorbable par des traitements relativement simples. Les expériences relatives à l'influence d'un séjour dans l'eau (après absorption préalable) sur l'exsorption ultérieure dans une solution de RbCl (figure 15) montrent que ce phénomène peut avoir lieu même à $1^\circ\text{-}2^\circ$. Quoiqu'il en soit, si l'exsorption dans l'eau ou dans une solution de RbCl , ne reflète pas toute l'absorption réversible dans chacun de ces milieux, elle en reflète essentiellement une partie au moins.

3/ L'étude de l'influence du rapport "volume d'eau/poids des racines" sur l'exsorption, nous a conduit à l'hypothèse d'un équilibre entre le Rb extérieur et le Rb exsorbable dans les racines. Cet équilibre, étant, nous l'avons vu, incompatible avec celui de diffusion, il nous paraît légitime de lui attribuer une nature chimique, et, pour cela, de faire intervenir des sites de rétention, où les ions Rb retenus seraient en équilibre avec ceux de l'extérieur. Le schéma de la réaction serait :



Les données ne sont pas suffisantes pour préciser les mécanismes intéressés, à savoir : une rétention du Rb par des liaisons facilement hydrolysables, ou, une rétention par d'autres mécanismes.

4/ Les essais conduits à $1^\circ\text{-}2^\circ$ dans des solutions salines autres que celles de RbCl , montrent que les $\text{Rb}_{(\text{exs } \text{NaCl})}$ et les $\text{Rb}_{(\text{exs } \text{CaCl}_2)}$ sont inférieurs aux $\text{Rb}_{(\text{exs } \text{RbCl})}$, tandis que les $\text{Rb}_{(\text{exs } \text{KCl})}$ sont équivalents aux $\text{Rb}_{(\text{exs } \text{RbCl})}$ (tableau I). Ces résultats peuvent être interprétés ainsi : le Rb et le K sont interchangeables ; leur pouvoir d'échange est supérieur à celui du Na^+ et du Ca^{++} , ion divalent. Il découle de cela que les échanges ne suivent pas la distribution de Donnan, mais sont sélectifs.

5/ Les $\text{Rb}_{(\text{exs } \text{eau})}$ et les $\text{Rb}_{(\text{exs } \text{RbCl})}$ augmentent avec la température d'absorption (figure 12 et tableau V), indice de la formation de nouveaux sites d'absorption réversible par l'intermédiaire du métabolisme.

6/ Lorsque l'on transfère les racines d'une température d'absorption à une autre, plus basse, mais non voisine de 0° , les quantités ultérieurement exsorbées tendraient à s'approcher des valeurs caractéristiques à la deuxième température, à mesure que le séjour dans cette température se prolonge. A une deuxième température voisine de 0° , les quantités ultérieure-

ment exsorbées restent équivalentes aux valeurs caractéristiques à la première température (tableau VI). La seule interprétation plausible, à notre avis, était d'admettre la présence de sites d'absorption réversible, formés et détruits par l'intervention du métabolisme. De tels sites, que nous qualifierons de "métaboliques", seraient probablement situés dans le protoplasme.

7/ La différence $Rb_{(exs\ RbCl - exs\ eau)}$ diminue, lorsque les racines, après absorption préalable, demeurent quelque temps dans l'eau, avant d'être mises dans une solution de $RbCl$ (figure 15 et 16) ; la diminution est d'autant plus marquée que la température de séjour dans l'eau est plus élevée. Ce résultat montre la fixation irréversible d'une partie du Rb , exsorbable dans une solution de $RbCl$, par le séjour dans l'eau. De plus, si comme nous l'avons supposé, l'exsorption dans une solution de $RbCl$ représente la somme de l'exsorption dans l'eau et de l'exsorption due à des échanges sélectifs, on pourrait en conclure qu'une partie du Rb , sélectivement échangeable, peut passer à l'état non échangeable, au cours du séjour dans l'eau. Un tel évènement est probablement métabolique.

Les deux faits, existence de sites d'échanges sélectifs, fixation des ions qui y sont retenus, à la suite d'un séjour dans l'eau, augmentent la probabilité de la nature protoplasmique d'une partie au moins de ces sites.

En effet, supposons que ces sites soient localisés dans les parois d'où le Rb est libéré dans l'e.l. primaire en échange contre des ions produits par le métabolisme (ions H^+ , par exemple), et que le Rb soit réabsorbé par les mécanismes qui régissent l'absorption irréversible ; dans ce cas, une telle sélectivité des échanges serait peu probable. Nous aurons, d'ailleurs, à parler de la localisation des sites d'absorption réversible dans la discussion générale.

8/ Une partie du Rb exsorbable, soit dans l'eau, soit dans une solution de $RbCl$, est irréversiblement fixée, lorsque les racines, après absorption, séjournent dans une atmosphère saturée d'humidité (tableau VII). La quantité fixée est plus grande que le Rb de l'e.l. primaire ne peut en rendre compte. Ces résultats confirment le passage du Rb exsorbable à l'état non exsorbable, à la suite d'un traitement relativement simple, mais n'apportent aucune précision supplémentaire sur les mécanismes impliqués.

Compte tenu des précédentes conclusions partielles, nous pouvons tracer, en première approximation, le tableau suivant de l'absorption du Rb exsorbable et de son exsorption dans de l'eau ou dans une solution de $RbCl$ à 1° - 2° .

Le Rb exsorbé provient de sources diverses :

1/ Les courbes d'exsorption en fonction de la durée d'exsorption étant diphasiques, il nous faut d'abord distinguer le Rb exsorbé pendant la deuxième phase, à vitesse constante, de celui qui sort à l'extérieur pendant la première phase.

2/ Une partie du Rb , faible, est exsorbée au cours de la première phase par des mécanismes identiques à ceux de l'exsorption pendant la seconde. Le reste, selon notre hypothèse, est absorbé par des mécanismes réversibles. Les mécanismes impliqués seraient :

- a) diffusion dans l'e.l. primaire, le mécanisme est passif ;
- b) rétention sur des sites d'absorption réversible.

Ces sites seraient, en partie au moins, localisés dans le protoplasme, et les mécanismes de rétention seraient en partie actifs.

c) rétention sur des sites d'échange.

Les échanges seraient spécifiques, (des échanges du type de Donnan n'ont pas été mis en évidence dans nos expériences) ; les mécanismes de l'absorption du Rb échangeable seraient en partie actifs, et les sites d'échange seraient en partie d'origine protoplasmique. Le Rb échangeable passerait à l'état non exsorbable à la suite de traitements simples, comme séjour des racines dans l'eau ou dans une atmosphère saturée d'humidité.

RESUME et CONCLUSIONS

Les principaux faits qui se sont dégagés au cours de ce chapitre, où fut étudiée l'influence de différents facteurs sur l'exsorption du Rb par des racines excisées d'Orge, sont les suivants :

1/ Le mode de préparation des racines après l'absorption a une grande influence sur les masses d'ions exsorbées mais seulement au tout début de l'exsorption. Pour les deux premières minutes, les racines essuyées exsorberont plus que les racines centrifugées, et encore plus que les racines lavées pendant 5 sec.

2/ A 1° - 2° C, les masses de Rb exsorbées dans différents milieux varient dans l'ordre suivant :

$$\text{Rb}_{(\text{exs eau})} \approx \text{Rb}_{(\text{exs CaCl}_2)} < \text{Rb}_{(\text{exs NaCl})} < \text{Rb}_{(\text{exs RbCl})} \approx \text{Rb}_{(\text{exs KCl})}$$

3/ A 25° C, dans l'eau et dans des solutions de NaCl ou de CaCl_2 , on observe au cours du temps une réabsorption du Rb exsorbé. Les valeurs de l'exsorption brute dans ces milieux, après 30 et 60 mn, sont inférieures à celles obtenues à 1° - 2° et varient dans l'ordre suivant :

$$\text{Rb}_{(\text{exs CaCl}_2)} < \text{Rb}_{(\text{exs eau})} < \text{Rb}_{(\text{exs NaCl})}$$

Ce phénomène de réabsorption, à 25° , ne se manifeste pas dans une solution de RbCl ou de KCl. Les Rb_{exs} correspondant à ces deux milieux sont du même ordre de grandeur et légèrement supérieurs aux $\text{Rb}_{(\text{exs RbCl})}$ et $\text{Rb}_{(\text{exs KCl})}$ à 1° - 2° .

4/ Les courbes de l'exsorption en fonction de la durée d'exsorption (à 1° - 2°) présentent deux parties : la première, curviligne, correspond à des durées de 20 à 40 mn, l'autre, linéaire correspond à une exsorption lente et de plus longue durée.

5/ Le rapport du poids de racines au volume d'eau influe sur les quantités exsorbées dans ce milieu. Les $\text{Rb}_{(\text{exs eau})}$ augmentent à mesure que ce rapport diminue, mais varient peu lorsqu'il est suffisamment faible.

6/ Les $\text{Rb}_{(\text{exs RbCl})}$ varient peu en fonction de la concentration de RbCl dans le milieu d'exsorption, sauf dans le cas où cette concentration est inférieure à celle du milieu d'absorption, ou dans celui où elle est de beaucoup plus élevée.

7/ Les courbes des $\text{Rb}_{(\text{exs eau})}$ et des $\text{Rb}_{(\text{exs RbCl})}$ en fonction de la durée d'absorption (celle d'exsorption étant de 60 mn) sont curvilignes et atteignent pratiquement leur asymptote horizontale au bout de 30 à 60 mn.

8/ Les $\text{Rb}_{(\text{exs eau})}$ et les $\text{Rb}_{(\text{exs RbCl})}$ augmentent en fonction de la température d'absorption ; l'effet de la température ne devient marqué qu'après les premières minutes d'absorption.

9/ Les $\text{Rb}_{(\text{exs eau})}$ et les $\text{Rb}_{(\text{exs RbCl})}$ augmentent avec la concentration d'absorption. Les e.l. apparents calculés à partir de ces valeurs, varient en sens inverse de ce facteur. Aux faibles concentrations leur valeur est supérieure à 100 % du volume des racines.

10/ Lorsqu'on transfère les racines d'une température d'absorption à une autre plus basse, mais non très voisine de 0°, les quantités ultérieurement exsorbées, tendent, à mesure que l'on prolonge la durée du séjour à la deuxième température, à se rapprocher des valeurs caractéristiques de celle-ci. Lorsque la deuxième température est voisine de 0°, les quantités ultérieurement exsorbées, restent équivalentes aux valeurs caractéristiques de la première température.

11/ La différence $Rb_{(exs, RbCl - exs, eau)}$ diminue lorsque les racines, après absorption préalable, séjournent pendant un certain temps dans de l'eau, avant d'être transférées dans une solution de RbCl.

12/ Les $Rb_{(exs, eau)}$ et les $Rb_{(exs, RbCl)}$ diminuent lorsque les racines, après absorption préalable, séjournent pendant un certain temps dans une atmosphère saturée d'humidité.

Ces résultats ont été discutés en vue d'élucider les mécanismes de l'absorption et de l'exsorption du Rb exsorbé et nous ont conduite aux conclusions et hypothèses suivantes :

Le Rb exsorbé à 1°-2° reflète essentiellement le Rb absorbé par des mécanismes réversibles. Les mécanismes de l'absorption exsorbable seraient :

- entrée d'ions par diffusion dans l'e.l. primaire ;
- rétention sur des sites par des mécanismes réversibles qui comportent entre autres, des échanges spécifiques. Ces sites seraient en partie au moins localisés dans le protoplasme, et les processus de rétention dépendraient en partie du métabolisme.

CHAPITRE V

ABSORPTION EN FONCTION DU TEMPS

L'étude systématique de l'absorption en fonction du temps a été entreprise lorsque j'ai constaté que la vitesse d'absorption après la phase initiale ne restait pas constante. En effet la variation de la vitesse posait un problème pour l'analyse de la cinétique d'absorption dans laquelle l'unité de référence est précisément la vitesse d'absorption à différentes concentrations. Si cette vitesse n'est pas constante quelle unité d'absorption pourrait-on employer ?

Nous ne considérerons ici que des expériences réalisées à 25°, réservant l'étude de l'influence de la température sur l'absorption en fonction du temps au chapitre suivant.

A - ABSORPTION EN FONCTION DU TEMPS PAR DES RACINES EXCISEES D'ORGE

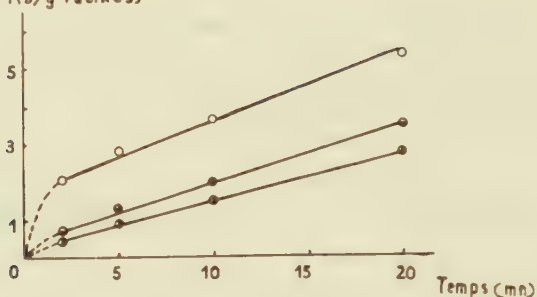
1 - Forme générale des courbes

a - Absorption dans une solution de concentration donnée

Les figures 17, 18 et 19 représentent les résultats de trois expériences différant par les intervalles de prélèvements successifs. Les différentes courbes dans chaque figure correspondent à l'absorption brute et aux absorptions résiduelles (exs eau ou exs RbCl). La concentration externe est dans tous les cas 5 mM/l.

La courbe d'absorption brute de la figure 17 montre deux parties très distinctes, l'une correspond à une première phase, très rapide, et apparemment terminée au bout de deux minutes, l'autre est sensiblement linéaire. Cette linéarité s'observe également pour les absorptions résiduelles, cependant les quantités absorbées au cours de la première phase sont nettement plus faibles et la pente des droites moindre. Les courbes de la figure 18 montrent dans leur première partie, entre 0 et 15 mn, les caractères rencontrés dans la figure 17, mais par la suite les courbes s'infléchissent légèrement. D'autre part les deux courbes de l'absorption brute et de l'absorption résiduelle (exs eau) deviennent sensiblement parallèles à partir de 30 mn, ce qui signifie que les quantités exsorbées se sont stabilisées. Dans la figure 19 les courbes ont au début sensiblement le même aspect que précédemment, mais ensuite elles s'infléchissent nettement vers l'axe des abscisses : au fur et à mesure que la durée d'absorption augmente, $\frac{dRb_a}{dt}$ diminue (Rb_a = quantité de Rb absorbée, $\frac{dRb_a}{dt}$ = vitesse d'absorption).

Absorption
(μM de Rb/g racines)



Figures 17 - Absorption en fonction du temps.

Conditions d'absorption : $\text{RbCl} = 5\text{mM/l}$

Notations : ○ = absorption brute
◐ = " résiduelle (exs eau)
● = " " (exs RbCl).

Absorption
(μM de Rb/g racines)

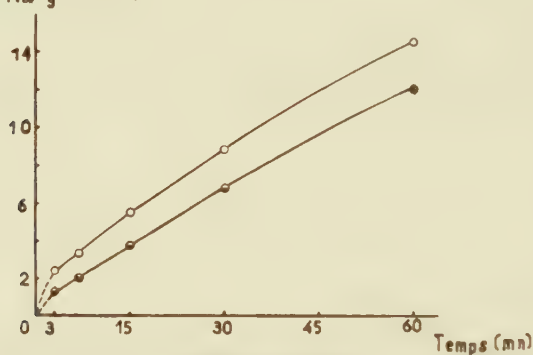


Figure 18 - Absorption en fonction du temps.

Conditions d'absorption et notations identiques à celles de la figure 17.

Absorption
(μM de Rb/g racines)

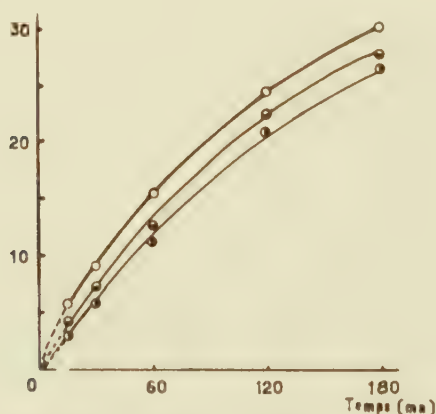


Figure 19 - Absorption en fonction du temps.

Conditions d'absorption et notations identiques à celles de la figure 17.

On peut donc résumer ces expériences ainsi : l'absorption (brute ou résiduelle) en fonction du temps procède en trois phases. La première est rapide et très brève (≤ 2 mn) ; la deuxième, entre 2 et 20 mn environ, se poursuit à vitesse constante ; la troisième qui dure plusieurs heures, met en évidence une diminution continue de la vitesse d'absorption avec le temps. L'exorsorption se fait surtout aux dépens de la première et deuxième phase d'absorption.

Les courbes qui viennent d'être présentées sont les plus caractéristiques. La durée de la phase linéaire peut cependant varier d'une expérience à l'autre. En général elle est égale à 30 mn environ. De plus, j'ai obtenu assez souvent, surtout pour des concentrations égales ou supérieures à 5 mM/l des courbes ayant une allure différente (figure 20) : l'absorption est d'abord très rapide, elle se ralentit entre 5 et 15 mn, augmente entre 15 et 30 mn, pour diminuer progressivement par la suite ; ce qui donne une courbe ondulée pour la première heure d'absorption. Notons que dans ce type de courbe ce dernier phénomène serait passé inaperçu si les mesures n'avaient débuté qu'à la 15ème minute. J'ai réalisé plusieurs essais pour déterminer la fréquence de ce type d'évolution. Environ 30 % des expériences donnent des courbes qui ont cette allure.

b - Absorption dans des solutions de différentes concentrations

Les résultats d'une expérience expressive sont représentés dans la figure 21. On constate que pour toutes les concentrations la vitesse d'absorption à partir de la 30ème minute environ, c'est-à-dire dans ce que nous avons appelé la 3ème phase, diminue en fonction du temps.

Des résultats analogues ont été obtenus avec d'autres concentrations qui variaient entre 0,01 et 50 mM/l de RbCl.

On peut donc conclure que les courbes d'absorption en fonction du temps manifestent à peu près les mêmes caractères aux différentes concentrations.

2 - Variation de $\frac{dRb_a}{dt}$ pendant la 3ème phase

Pour préciser comment varie $\frac{dRb_a}{dt}$ dans la troisième phase j'ai tracé la courbe représentative de cette grandeur, non pas en fonction du temps - on observe une décroissance difficile à analyser - mais en fonction du Rb absorbé : $\frac{dRb_a}{dt} = f(Rb_a)$. Les valeurs de $\frac{dRb_a}{dt}$ sont obtenues par la mesure de la pente de la courbe d'absorption $Rb_a = f(t)$ aux points correspondants.

Une de ces courbes est présentée dans la figure 22. Les différents points correspondent à des temps d'absorption supérieurs à 30 mn. On y constate que la relation entre les deux variables est linéaire, du type $\frac{dRb_a}{dt} = a - b Rb_a$.

Cette relation peut-être mise sous la forme :

$$\frac{dRb_a}{dt} = k (Rb_m - Rb_a) \quad (1)$$

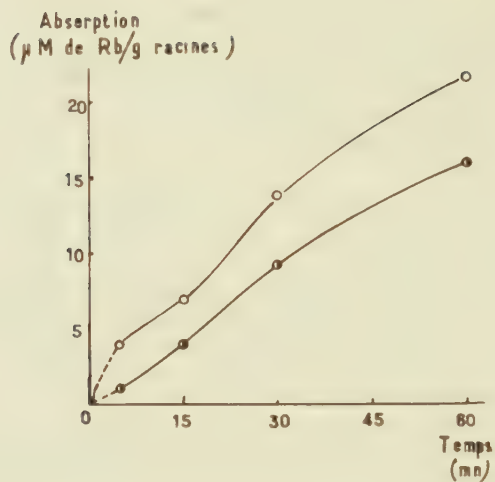


Figure 20 - Absorption en fonction du temps.
Conditions d'absorption et notations identiques à celles de la figure 17.

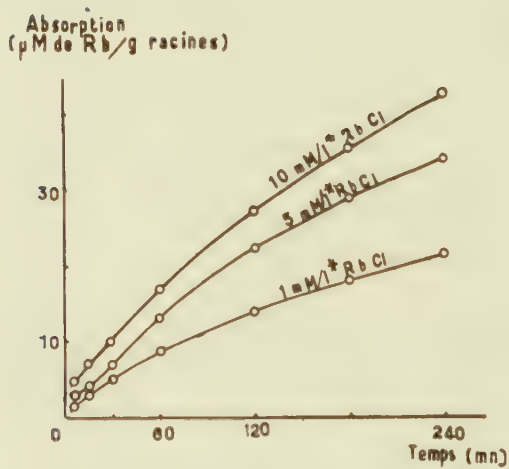


Figure 21 - Absorption (brute) en fonction du temps pour différentes concentrations.

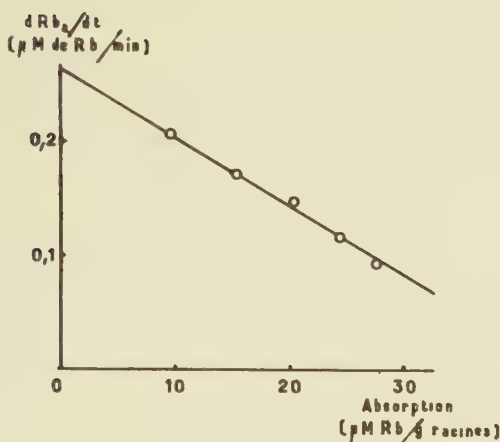


Figure 22 - Variation de la vitesse d'absorption ($\frac{dRb_a}{dt}$) en fonction du temps.

Expérience identique à celle de la figure 19 ; le graphique traduit les résultats de de l'absorption brute.

où Rb_m est égal à la quantité maximale théorique de Rb qui peut-être absorbée au cours du temps dans l'expérience considérée, et où k est une constante que j'appellerai constante de vitesse.

Intégrons l'équation (1) on obtient

$$Rb_a = Rb_m (1 - e^{-kt}) \quad (1 \text{ bis})$$

3 - Détermination des constantes k et Rb_m

Les constantes k et Rb_m peuvent être déterminées par deux méthodes.

a - 1ère méthode

Les constantes k et Rb_m sont obtenues graphiquement sur la droite représentative $\frac{dRb_a}{dt} = f(Rb_a)$ dont la pente est égale à k et l'ordonnée à l'origine à kRb_m .

Cette méthode est incommode pour deux raisons :

1/ elle porte sur les quantités totales de Rb_a et pas seulement sur ses variations : elle n'élimine donc pas l'erreur du zéro commise forcément sur Rb , du fait de l'existence des deux premières phases où l'équation (1) n'est pas applicable ;

2/ les erreurs relatives dans les mesures des pentes $\frac{dRb_a}{dt}$ peuvent être très grandes.

b - 2ème méthode

Principe

Cette deuxième méthode porte au contraire sur les variations du Rb absorbé. Elle découle de l'équation (1) qui peut-être mise, comme nous allons le montrer, sous la forme :

$$\log \Delta Rb_a \approx \log k Rb_m \Delta t - \frac{k}{2,3} \left(t + \frac{\Delta t}{2} \right) \quad (2)$$

où Δt est un intervalle de temps arbitraire mais constant et suffisamment court, et où ΔRb_a est la quantité de Rb absorbée pendant ce temps.

Si nous exprimons le temps t en prenant Δt pour unité, l'équation (2) devient :

$$\log \Delta Rb_a \approx \log k Rb_m - \frac{k}{2,3} \left(t + \frac{1}{2} \right) \quad (2 \text{ bis})$$

La courbe des $\log \Delta Rb_a$ en fonction du temps, est une droite ; sa pente est $-\frac{k}{2,3}$, son ordonnée à l'origine $\log k Rb_m \Delta t$ où $\log k Rb_m$, si l'on a pris Δt comme unité de temps : ainsi k et Rb_m peuvent être déterminés.

Cette méthode est plus commode que la première :

1/ elle ne fait pas intervenir les quantités totales de Rb, mais ses variations, et de ce fait elle élimine l'erreur du zéro, introduite au cours des deux premières phases ;

2/ les erreurs dans la détermination des constantes sont plus faibles, ΔRb_a étant plus facile à évaluer que $\frac{dRb_a}{dt}$

La figure 23 donne un exemple d'application de cette méthode. On constate que la courbe $\log \Delta Rb_a = f(t)$ est une droite : la déviation du premier point due à l'erreur du zéro sera discutée plus loin.

Démonstration de l'équation (2)

La vitesse d'absorption $\frac{dRb_a}{dt}$ est donnée par une équation du type :

$$\frac{dy}{dt} = k (A - y) \text{ ou } y = A (1 - e^{-kt})$$

Pendant le temps suffisamment court Δt , où y augmente de Δy nous pouvons confondre la courbe représentative de $y = f(t)$ avec sa tangente et écrire :

$$\Delta y \approx y'_t \Delta t$$

ou mieux en considérant la tangente au milieu de l'intervalle de temps Δt et non pas à son origine

$$\Delta y \approx y'_{t + \frac{\Delta t}{2}} \Delta t$$

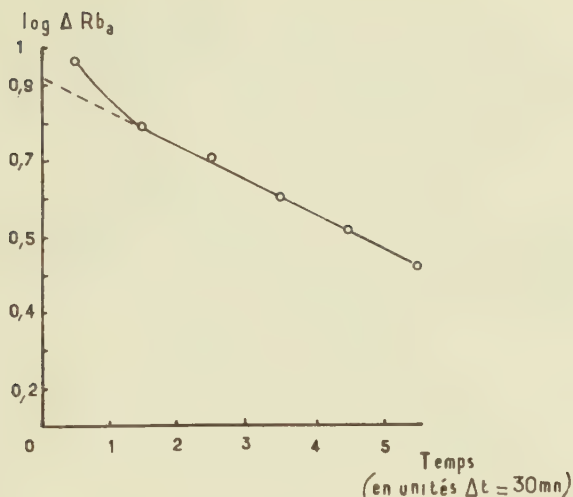


Figure 23 - Variation des $\log \Delta Rb_a$ en fonction du temps.

$\Delta Rb_a = \mu M$ de Rb absorbés pendant des intervalles de temps successifs, Δt , de 30 mn. Expérience identique à celle de la figure 19 ; le graphique traduit les résultats de l'absorption brute.

or

$$y'_t = kAe^{-kt}$$

donc

$$y'_{t+\frac{\Delta t}{2}} = kAe^{-k(t+\frac{\Delta t}{2})}$$

par conséquent

$$\Delta y \approx kAe^{-k(t+\frac{\Delta t}{2})} \Delta t \quad (3)$$

ou

$$\text{Log } \Delta y \approx \text{Log } kA\Delta t - k \left(t + \frac{\Delta t}{2} \right)$$

et

$$\log \Delta y \approx \log kA\Delta t - \frac{k}{2,3} \left(t + \frac{\Delta t}{2} \right)$$

qui n'est autre sous nos notations habituelles que l'équation (2)

Erreur commise

Elle se calcule aisément en calculant la vraie valeur de Δy , soit Δy_v ;

$$\Delta y_v = Ae^{-kt} - Ae^{-k(t+\Delta t)} = Ae^{-kt} (1 - e^{-k\Delta t})$$

$$\Delta y_v = Ae^{-kt} \left(k\Delta t - \frac{k^2\Delta t^2}{2!} + \frac{k^3\Delta t^3}{3!} \dots \right)$$

$$\Delta y_v = k A e^{-kt} \Delta t \left(1 - k \frac{\Delta t}{2!} + \frac{k^2 \Delta t^2}{3!} \dots \right) \quad (4)$$

alors que nous avons utilisé pour Δy la formule approchée (3)

$$\begin{aligned} \Delta y &\approx k A e^{-k(t + \frac{\Delta t}{2})} \Delta t = k A e^{-kt} \cdot e^{-\frac{k \Delta t}{2}} \Delta t \\ \Delta y &\approx k A e^{-kt} \Delta t \left(1 - k \frac{\Delta t}{1! \cdot 2} + \frac{k^2 \Delta t^2}{2! \cdot 4} \dots \right) \end{aligned} \quad (5)$$

Les deux expressions (4) et (5) sont équivalentes pour les deux premiers termes et ne diffèrent qu'à partir du terme Δt^2 .

Leur écart maximum ε est :

$$\varepsilon = k^2 \Delta t^2 \left(\frac{1}{6} - \frac{1}{8} \right) = \frac{k^2 \Delta t^2}{24}$$

ou si l'on prend Δt comme unité

$$\varepsilon = \frac{k^2}{24}$$

Dans les ordres de grandeurs rencontrés pour k (avec des unités de temps Δt comprises entre 30 et 60 mn, k varie de 0,2 à 0,3), ε correspond à des valeurs de 0,002 à 0,004, alors que les Δy correspondants sont le plus souvent supérieurs à 1 avec les mêmes unités : l'approximation faite est donc des plus légitimes.

c - Comparaison des deux méthodes

Si on ramène les valeurs des constantes obtenues par les deux méthodes aux mêmes unités (temps en minutes et Rb_m en $\mu M/g$ racines on obtient :

1ère méthode, $k = 0,0053$; $Rb_m = 50$

2ème méthode, $k = 0,0069$; $Rb_m = 41,6$

Comme nous l'avons indiqué, les valeurs obtenues par la 2ème méthode sont plus proches de la vérité. On constate cependant un bon accord entre ces résultats ce qui renforce leur validité.

d - Variation des constantes k et Rb_m avec la concentration

Lorsqu'on trace pour les différentes concentrations les courbes $\log \Delta Rb_m$ (défini comme précédemment) en fonction de t , on obtient des droites sensiblement parallèles (figure 24). La constante k des expressions :

$$Rb_m = Rb_m (1 - e^{-kt}) \quad (1 \text{ bis})$$

$$\log \Delta Rb_m \approx \log k Rb_m - \frac{k}{2,3} \left(t + \frac{1}{2} \right) \quad (2 \text{ bis})$$

est donc la même pour toutes les concentrations, seul Rb_m varie.

Si nous appelons $\Delta Rb_{a(c_1 \Delta t_1)}$ et $\Delta Rb_{a(c_2 \Delta t_1)}$ les quantités de Rb absorbées pendant l'intervalle de temps Δt , dans les concentrations c_1 et c_2 et si nous désignons par $Rb_{m(c_1)}$ et $Rb_{m(c_2)}$ les valeurs de Rb correspondant à c_1 et c_2 la relation (1 bis) entraîne

$$\frac{\Delta Rb_{a(c_1 \Delta t_1)}}{\Delta Rb_{a(c_2 \Delta t_1)}} = \frac{Rb_{m(c_1)} (1 - e^{-k \Delta t_1})}{Rb_{m(c_2)} (1 - e^{-k \Delta t_1})} = \frac{Rb_{m(c_1)}}{Rb_{m(c_2)}}$$

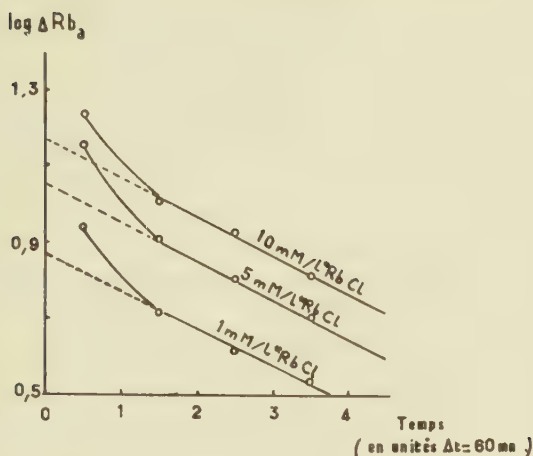


Figure 24 - Variation des $\log \Delta Rb_a$ en fonction du temps pour différentes concentrations.

$\Delta Rb_a = \mu M$ de Rb absorbés pendant des intervalles de temps successifs, Δt , de 60 mn ; expérience identique à celle de la figure 21.

Il s'ensuit que le rapport $\frac{\Delta Rb_{a(c_1)}}{\Delta Rb_{a(c_2)}}$ est indépendant du temps, donc de la durée de Δt (il suffit que Δt soit pris dans la 3ème phase), et dépend seulement de la concentration. Autrement dit les rapports entre les quantités absorbées à n'importe quel moment au cours de la 3ème phase pour deux concentrations différentes, dépendent uniquement de celles-ci. Et, en effet, c'est ce que montre le tableau VIII. Les rapports $\frac{\Delta Rb_{a(c_1)}}{\Delta Rb_{a(c_2)}}$ correspondant à des moments différents de l'absorption après la 30ème minute, sont du même ordre de grandeur.

Il est curieux que cette constatation soit également valable pour les rapports $\frac{Rb_{a(c_1)}}{Rb_{a(c_2)}}$ ($Rb_{a(c)} = Rb_a$ absorbé à la concentration c , pendant le temps t , mesuré depuis le début de l'absorption), lorsque la durée d'absorption est égale ou supérieure à 30 mn (tableau VIII).

En conclusion on peut dire que, pratiquement, les rapports entre les quantités absorbées pendant des temps supérieurs à 30 mn à deux concentrations différentes sont indépendants de la durée d'absorption. Précisons que cette relation a été confirmée seulement pour des expériences de 4 heures au plus, et seulement à 25° ou 30° C.

4 - L'absorption pendant les deux premières phases

La comparaison des courbes d'absorption brute à celles des absorptions résiduelles nous montre que l'exorption se réalise surtout aux dépens de l'absorption pendant les deux premières phases.

D'autre part la relation :

Tableau VIII

Rapports entre les quantités de Rb absorbées à deux concentrations dans le même intervalle de temps

Notations: $c_1, c_2, c_3 = 1, 5, 10$ mM/l de $^{86}\text{RbCl}$

$\Delta \text{Rb}_{a(c)}$ = μM de Rb absorbés dans une solution de concentration c , pendant l'intervalle de temps Δt

$\text{Rb}_{a(c)}$ = μM de Rb absorbés à la concentration c , pendant le temps t , depuis le début de l'absorption.

Les différentes valeurs traduisent les résultats présentés dans la figure 24.

Intervalle correspondant à Δt (mn)	Valeur du rapport	
	$\Delta \text{Rb}_{a(c_2)} / \Delta \text{Rb}_{a(c_1)}$	$\Delta \text{Rb}_{a(c_3)} / \Delta \text{Rb}_{a(c_1)}$
5 - 10	0,93	1,53
15 - 60	1,71	1,50
30 - 60	1,55	1,95
60 - 120	1,65	1,89
120 - 240	1,52	2,02
Temps (t) (mn)	$\text{Rb}_{a(c_2)} / \text{Rb}_{a(c_1)}$	$\text{Rb}_{a(c_3)} / \text{Rb}_{a(c_1)}$
5	1,85	3,03
15	1,55	2,46
30	1,41	1,90
120	1,59	1,94
240	1,57	1,97

$$\log \Delta \text{Rb}_a = \log k \text{Rb}_a \Delta t - \frac{k}{2,3} \left(t + \frac{\Delta t}{2} \right)$$

n'est, nous l'avons vu, valable qu'à partir de la 30ème minute ; pour des durées plus courtes, correspondant aux deux premières phases, les quantités absorbées sont en général supérieures aux valeurs prévues par cette relation: ainsi le premier point des courbes $\log \Delta \text{Rb}_a = f(t)$ (lorsque les Δt correspondants sont de 30 mn) se situe en général au-dessus de la droite représentative.

On pourrait penser que ce supplément d'absorption au cours des 30 premières minutes correspond au Rb exsorbable, puisque l'exsorption s'effectue surtout aux dépens du Rb absorbé pendant ce temps-là ; mais si nous calculons la quantité de Rb correspondant à la différence entre le premier point expérimental et le point théorique donné par la droite $\log \Delta \text{Rb}_a = f(t)$ nous constatons qu'elle est inférieure à la quantité de Rb exsorbable. Donc, 1°, il y a un supplément d'absorption pendant les deux premières phases par rapport à la 3ème ; 2°, ce supplément est inférieur au Rb exsorbable ; il varie d'ailleurs d'une manière très irrégulière d'une concentration à l'autre ou d'une expérience à l'autre.

B - ABSORPTION EN FONCTION DU TEMPS PAR DES RACINES D'ORGE NON EXCISEES ET DES RACINES EXCISEES TEMOINS

Ces expériences se proposent la comparaison de l'absorption en fonction du temps par des racines excisées à celle des racines attachées à la plante. J'ai voulu, entre autres, examiner la possibilité d'expliquer la variation de la vitesse d'absorption en fonction du temps dans les racines excisées, par un retour au milieu extérieur d'une partie du Rb absorbé, retour qui s'effectuerait au niveau de la surface coupée.

Selon plusieurs chercheurs (Hylmö 1953, 1955, Van den Honert et coll. 1955, Russel et Shorrocks 1959) la fraction des ions absorbés, transportée ultérieurement aux parties aériennes, dépendrait d'une manière ou d'une autre de la concentration extérieure ; pour tenir compte de ce fait j'ai effectué deux expériences, l'une avec 1 mM/l, l'autre avec 10 mM/l de $^{86}\text{RbCl}$ dans la solution extérieure. Les résultats sont consignés aux figures 25 et 26. On retrouve dans ces expériences le phénomène déjà observé chez les racines excisées : la vitesse d'absorption par des plantules entières n'est pas linéaire, mais diminue avec le temps. La fraction du Rb absorbé, transportée aux parties aériennes est dans les deux expériences relativement faible, mais il nous faut distinguer le cas des deux concentrations.

a) Avec 1 mM/l les quantités absorbées par les plantules entières diffèrent peu de celles absorbées par les racines excisées, surtout pendant les trois premières heures. Les quantités transportées dans les parties aériennes étant très faibles et dans la plupart des cas inférieures aux erreurs d'expérience, il s'ensuit que les teneurs en Rb des racines des deux systèmes étudiés sont à peu près du même ordre de grandeur.

b) Avec 10 mM/l de $^{86}\text{RbCl}$ dans le milieu extérieur, les quantités absorbées par les plantes entières sont supérieures à celles correspondant aux racines excisées. La différence est à peu près égale aux quantités de Rb transportées dans les tiges de sorte qu'ici aussi les quantités totales retenues par les racines non excisées et les racines excisées sont à peu près égales.

On remarquera aussi que les courbes de l'absorption résiduelle (exs RbCl) correspondant aux racines excisées et aux racines liées à la plante pendant l'absorption, mais excisées pour l'exsorption, se superposent ; autrement dit les quantités exsorbées par les deux sortes systèmes varient peu entre elles.

On peut résumer ces expériences ainsi.

La teneur en Rb des racines non excisées, ou les masses de cet ion, exsorbées après excision, sont du même ordre de grandeur que pour les témoins excisés.

Les quantités de Rb transportées aux parties aériennes sont relativement faibles. Leur valeur est cependant plus élevée avec 10 mM/l de $^{86}\text{RbCl}$ dans le milieu d'absorption qu'avec 1 mM/l.

Ici encore, précisons que ces conclusions ont été établies seulement pour des expériences de 4 heures, et ne sont peut-être pas valables pour d'autres durées.

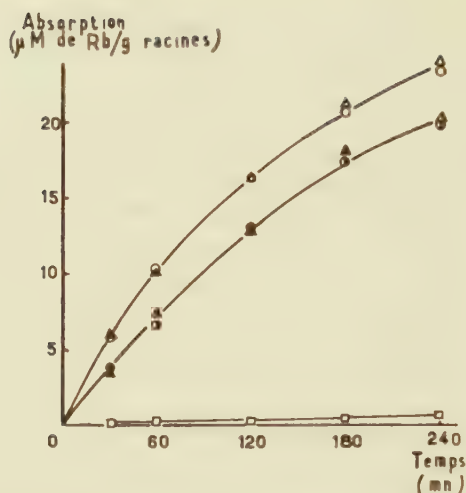


Figure 25 - Absorption en fonction du temps par des plantules entières d'Orge et des racines excisées témoins.

Conditions d'absorption : $^*\text{RbCl} = 1 \text{ mM/l.}$

Notations : $\circ$ = absorption brute, racines excisées

Δ = " " , plantules

$\bullet$ = " résiduelle (ex RbCl), racines excisées

Δ = " " " " , " de plantules excisées pour l'exsorption

$\square$ = Rb dans les parties aériennes, après absorption.

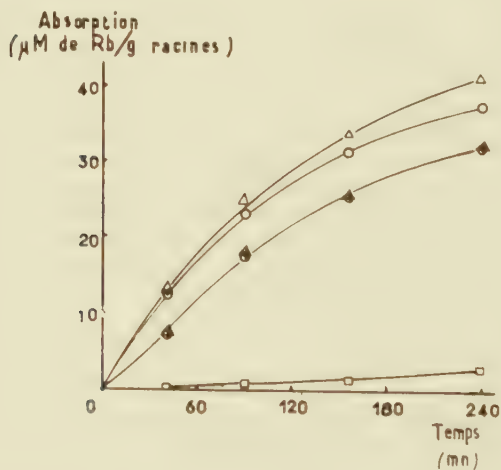


Figure 26 - Absorption en fonction du temps par des plantules entières d'Orge et des racines excisées témoins.

Conditions d'absorption : $^*\text{RbCl} = 10 \text{ mM/l.}$

Notations identiques à celles de la figure 26.

C - ABSORPTION EN FONCTION DU TEMPS PAR DES RACINES EXCISEES DE BLE

Pour examiner la variation de la vitesse d'absorption en fonction du temps dans d'autres plantes que l'Orge j'ai répété les expériences d'absorption en fonction du temps avec des racines excisées de Blé.

Les résultats d'une expérience démonstrative sont présentés dans la figure 27. L'absorption a été suivie pour des concentrations 1 mM/l, et de 10 mM/l de $^86\text{RbCl}$ dans la solution extérieure. La forme des courbes rappelle celle des expériences sur l'Orge ; la vitesse d'absorption $\frac{d\text{Rb}_a}{dt}$ diminue avec le temps. Il ne semble donc pas y avoir de différence essentielle pour ce phénomène entre ces deux espèces.

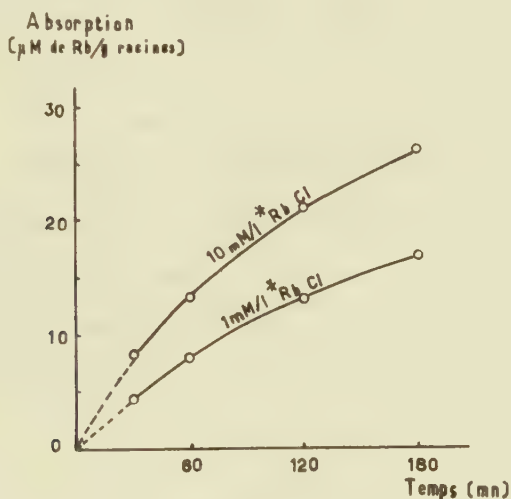


Figure 27 - Absorption (brute) en fonction du temps par des racines excisées de Blé.

RESUME ET CONCLUSION

Les faits suivants se dégagent des expériences relatives à l'absorption du Rb par des racines excisées d'Orge :

1/ L'absorption brute ou les absorptions résiduelles se poursuivent en trois phases. La première est rapide et brève (≤ 2 mn), la seconde, à vitesse constante, dure 2 à 30 mn environ, la troisième d'une durée de plusieurs heures traduit une diminution de la vitesse d'absorption en fonction du temps. (Une diminution analogue a été également notée pour des racines de Blé).

La deuxième phase ne se manifeste pas dans toutes les expériences : souvent, surtout pour des fortes concentrations externes, il y a d'abord un ralentissement, puis une augmentation de la vitesse d'absorption.

Les trois phases ne traduisent que les différentes parties des courbes d'absorption, sans fournir aucune indication sur les mécanismes qui régissent l'absorption.

2/ Les courbes des absorptions brute et résiduelles deviennent sensiblement parallèles entre 30 et 60 mn ; cela montre que très peu de Rb exsorbable est absorbé pendant la troisième phase, et que le Rb exsorbé correspond surtout à l'absorption pendant les deux premières. Il convient de souligner qu'une partie du Rb exsorbable, est absorbée pendant la deuxième phase, car, en général, lorsqu'une phase à vitesse constante suit une première phase rapide et brève on l'attribue à l'installation d'un état de régime de l'absorption non exsorbable.

3/ La diminution de la vitesse d'absorption $\frac{dRb_s}{dt}$ à partir de la 30ème minute environ, ne peut-être attribuée à un retour du Rb absorbé, dans le milieu d'absorption, par la surface excisée : on constate une diminution analogue avec des racines d'Orge non excisées.

4/ La variation de $\frac{dRb_s}{dt}$ avec le temps pendant la troisième phase est donnée par l'équation :

$$\frac{dRb_s}{dt} = k (Rb_m - Rb_s) \quad (1)$$

d'où

$$Rb_s = Rb_m (1 - e^{-kt}) \quad (1 \text{ bis})$$

et

$$\log \Delta Rb_s \approx \log k Rb_m \Delta t - \frac{k}{2,3} \left(t + \frac{\Delta t}{2} \right) \quad (2)$$

Cette dernière relation nous permet de déterminer graphiquement la valeur des constantes k et Rb_m .

Les quantités de Rb absorbées pendant les deux premières phases sont supérieures à celles prévues par ces relations ; le supplément constaté est toutefois inférieur au Rb exsorbable, et varie d'une manière irrégulière. Par conséquent, on ne peut considérer l'absorption comme la simple juxtaposition d'une absorption non exsorbable obéissant aux relations (1 bis) ou (2), et d'une absorption exsorbable ayant lieu pendant les deux premières phases.

5/ Lorsque l'absorption a lieu à différentes concentrations, la constante k des relations (1), (1 bis) et (2) (valables pour la 3ème phase), ne varie pas, tandis que Rb_m augmente avec la concentration externe.

Cette constatation a permis de montrer que les rapports entre les quantités de Rb absorbées à deux concentrations pendant des intervalles de temps pris après la 30ème minute, sont indépendantes des temps d'absorption (du moins pendant la durée de nos expériences, soit 4 heures).

Il est en outre curieux de constater que cette relation reste, dans une certaine mesure, également valable pour l'absorption brute pendant les 30 premières minutes (ou plus), période pendant laquelle les racines absorbent la plus grande partie du Rb exsorbable, et où l'absorption brute manifeste souvent des irrégularités ; mais peut-être ne s'agit-il que d'une coïncidence.

Quoiqu'il en soit, cette indépendance entre les rapports de la masse absorbée à différentes concentrations et le temps d'absorption, au moins lorsque ce dernier excède 30 mn, nous permettra, malgré la variation de la vitesse d'absorption avec le temps, de ne pas nous soucier de cette variation lorsqu'il s'agira de comparer les absorptions à différentes concentrations : il nous suffira de considérer une durée d'expérience supérieure à 30 mn et nous pourrions alors indifféremment prendre comme unité soit la vitesse d'absorption, soit plus approximativement la masse totale absorbée.

CHAPITRE VI

ABSORPTION EN FONCTION DE LA TEMPÉRATURE

Dans les expériences qui suivent je me suis proposée l'étude des relations entre la température et l'absorption en fonction du temps et de la concentration. Nous envisagerons l'absorption brute seulement, sans tenir compte de l'exsorption : l'absorption du Rb exsorbé, essentielle au début de l'absorption, devient négligeable par la suite, dans ce que nous avons appelé la 3ème phase, et c'est principalement l'influence de la température au cours de cette phase qui nous intéressera ici.

1 - Influence de la température sur l'absorption en fonction du temps

Les résultats d'une expérience démonstrative apparaissent dans la figure 28. La concentration extérieure est de 5 mM/l. Les courbes d'absorption à 0°, 5° et 14° possèdent toutes les trois une première partie, correspondant à une phase rapide et brève. Par la suite, après une phase plus ou

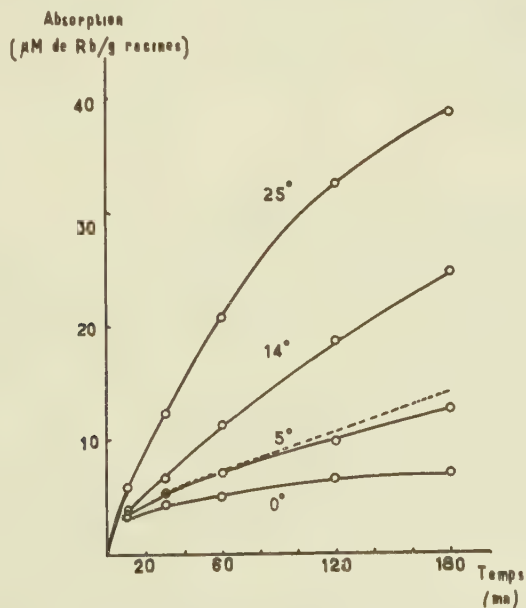


Figure 28 - Absorption (brute) en fonction du temps à différentes températures.
Conditions d'absorption : $\text{RbCl} = 5 \text{ mM/l}$.

(Pour rendre plus visible la légère diminution de la vitesse d'absorption à 5°, la droite reliant les deux premiers points a été prolongée en tirets.

moins à vitesse constante, de durée variable, la vitesse d'absorption diminue en fonction du temps. La phase initiale n'est pas nette dans la courbe d'absorption à 25° ; cette courbe appartient probablement au type décrit plus haut (figure 20) où l'absorption entre 5 et 15 mn présente une phase irrégulière.

Etant donné la variation de la vitesse d'absorption en fonction du temps, un calcul du Q_{10} des masses absorbées pendant un temps déterminé nous renseignerait peu sur l'influence de la température sur l'absorption. Pour mieux préciser cette influence nous nous sommes référée à deux méthodes différentes

1ère méthode

Elle consiste à calculer les Q_{10} des constantes k , obtenues d'après les courbes $\log \Delta Rb_a = f(t)$: en effet, dans le cas où la vitesse d'absorption à toutes les températures suivrait la relation $\frac{dRb_a}{dt} = k (Rb_\infty - Rb_a)^{(1)}$, valable on l'a vu pour l'absorption à 25°C, et dans le cas où seul k , mais non Rb_∞ , varierait avec la température, les Q_{10} des constantes k correspondraient approximativement à ceux de l'absorption au début de la troisième phase. Cette méthode n'est manifestement pas valable pour l'absorption à 0°, pour laquelle la vitesse est pratiquement constante entre 30 et 120 mn, puis diminue brusquement entre 120 et 180 mn.

Les courbes $\log \Delta Rb_a = f(t)$ pour l'absorption à 5°, 14° et 25° ont été tracées dans la figure 29. Les points correspondant à l'absorption à une température donnée, à l'exception du premier, s'alignent, sur une droite. On

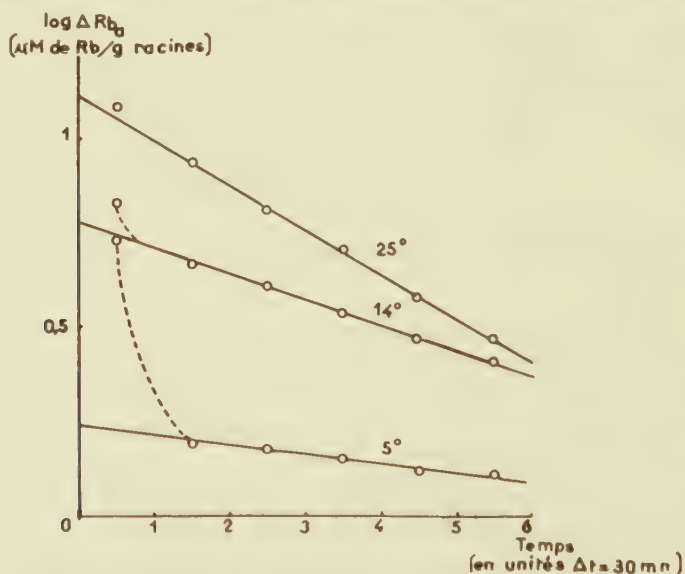


Figure 29 - Variation des $\log \Delta Rb_a$ en fonction du temps à différentes températures. $\Delta Rb_a = \mu M$ de Rb_a absorbés pendant des intervalles de temps successifs Δt , de 30 mn. Expérience identique à celle de la figure 28.

(1) Avec les notations utilisées dans le chapitre précédent.

peut donc conclure que la vitesse d'absorption à partir de la 30ème minute environ varie, aux trois températures, conformément à la relation précédente.

Les valeurs des constantes k et Rb_m calculées à partir de ces courbes sont :

Température	5°	$k = 0,0585$	Rb_m 30
"	14°	" = 0,155	" 39,8
"	25°	" = 0,269	" 47,9

Les valeurs des deux constantes, Rb_m et k , augmentent en fonction de la température. L'augmentation est toutefois nettement plus accusée dans le cas des constantes k que dans celui des Rb_m : les rapports des valeurs de k à deux températures sont égaux à :

$$\frac{k(14^\circ)}{k(5^\circ)} = 2.65 \quad \frac{k(25^\circ)}{k(5^\circ)} = 4.63 \quad \frac{k(25^\circ)}{k(14^\circ)} = 1.74$$

tandis que ceux de Rb_m sont :

$$\frac{Rb_m(14^\circ)}{Rb_m(5^\circ)} = 1.33 \quad \frac{Rb_m(25^\circ)}{Rb_m(5^\circ)} = 1.60 \quad \frac{Rb_m(25^\circ)}{Rb_m(14^\circ)} = 1.20$$

La variation moindre de Rb_m avec la température par rapport à celle de k rend tout de même intéressant le calcul des Q_{10} des constantes k ; de tels Q_{10} nous donneraient une mesure approximative de l'influence de la température sur l'absorption.

Les Q_{10} des constantes k de cette expérience et de quelques autres sont consignés au tableau IX. On constate que la valeur des Q_{10} dépend des intervalles de température : plus les températures qui limitent ces intervalles sont basses, plus les Q_{10} sont élevés. Je reviendrai sur ce phénomène dans la discussion générale.

2ème méthode

Le calcul des Q_{10} porte sur les masses absorbées pendant des laps de temps consécutifs ; ces Q_{10} se rapportent par conséquent aux vitesses moyennes de l'absorption pendant ces intervalles. Leurs valeurs, calculées pour des intervalles de température consécutifs, figurent au tableau X. On constate qu'elles varient en fonction du temps et de la température. Abstraction faite de quelques irrégularités, entre 10 et 60 mn, les Q_{10} varient de la manière suivante : pendant les 10 premières minutes ils sont voisins de 1, par la suite ils augmentent, puis diminuent de nouveau. Cette variation se prête à l'interprétation suivante. Le Rb absorbé pendant les premières minutes est dans sa grande partie exsorbable. Les expériences d'exsorption présentées plus haut montrent que cette fraction du Rb absorbé est, pendant les premières minutes, peu influencée par la température, d'où les faibles Q_{10} observés pour le début de l'absorption. Après les 10 premières minutes les Q_{10} augmentent, indice d'une absorption du Rb qui s'effectue principalement par des mécanismes actifs.

La diminution des valeurs des Q_{10} observée ensuite est en accord avec le fait que la vitesse d'absorption en fonction du temps varie conformément à l'équation (1).

$$\frac{dRb_a}{dt} = k (Rb_m - Rb_a)$$

Tableau IX

Valeurs du Q_{10} des constantes k

Données des différentes expériences.

Expérience	Intervalle de température	Valeur du Q_{10}
présentée dans le figure 29	5°-14°	2,96
non reproduite ici	6°-14°	3,50
présentées dans les figures 32 et 33	5°-20°	2,18
présentée dans la figure 29	14°-25°	1,65
non reproduite ici	14°-30°	1,52

Tableau X

Valeurs du Q_{10} des vitesses moyennes d'absorption a des intervalles successifs de température et de temps

Expérience identique à celle de la figure 28.

Intervalle de temps (mn)	Intervalle de température (C°)		
	0°-5°	5°-14°	14°-25°
0-10	1,16	1,13	1,41
10-30	3,02	1,60	2,39
30-60	2,46	3,28	1,75
60-120	2,41	3,20	1,16
120-180	11,50	2,49	1,12

Bien que les deux constantes Rb_m et k augmentent avec la température, ce facteur influence relativement peu les valeurs de Rb_m , mais affecte beaucoup plus celles des constantes k. Il en résulte que la vitesse d'absorption diminue plus vite en fonction du temps aux températures élevées, d'où la diminution des valeurs des Q_{10} en fonction de la durée d'absorption.

Notons que, ici aussi, les valeurs du Q_{10} calculées pour l'intervalle de température 5°-14° sont supérieures à celles correspondant à l'intervalle 14°-25°.

Quant à la valeur élevée du Q_{10} des vitesses d'absorption entre 120 et 180 mn pour l'intervalle 0°-5°, elle tient à la diminution très sensible signalée plus haut de la vitesse d'absorption à 0°, après 120 mn. Nous aurons à revenir sur ce phénomène dans la discussion générale.

2 - Influence de la température sur l'absorption en fonction du temps et de la concentration

L'absorption en fonction du temps et de la concentration a été suivie dans deux expériences parallèles, l'une à 5° et l'autre à 20°. Les résultats

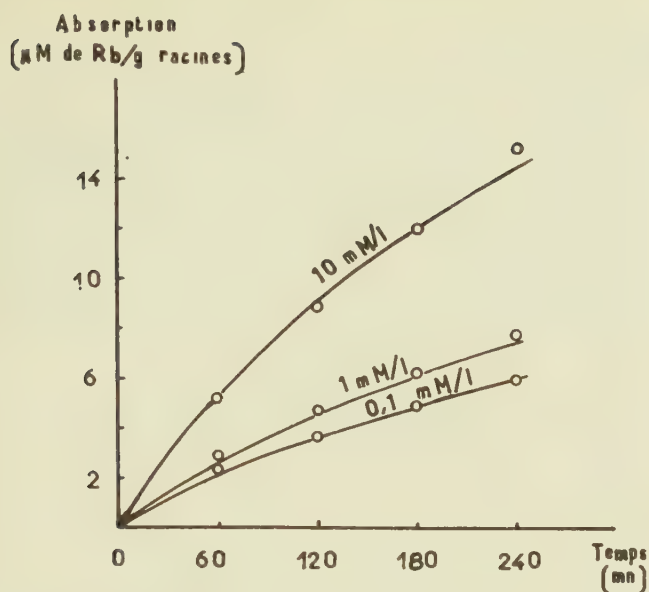


Figure 30 - Absorption (brute) en fonction du temps à 5°, pour différentes concentrations.

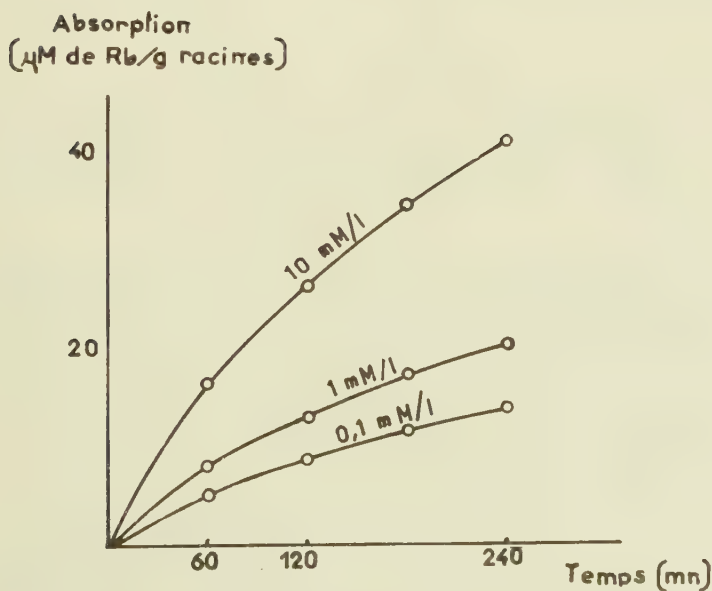


Figure 31 - Absorption (brute) en fonction du temps à 20°, pour différentes concentrations.

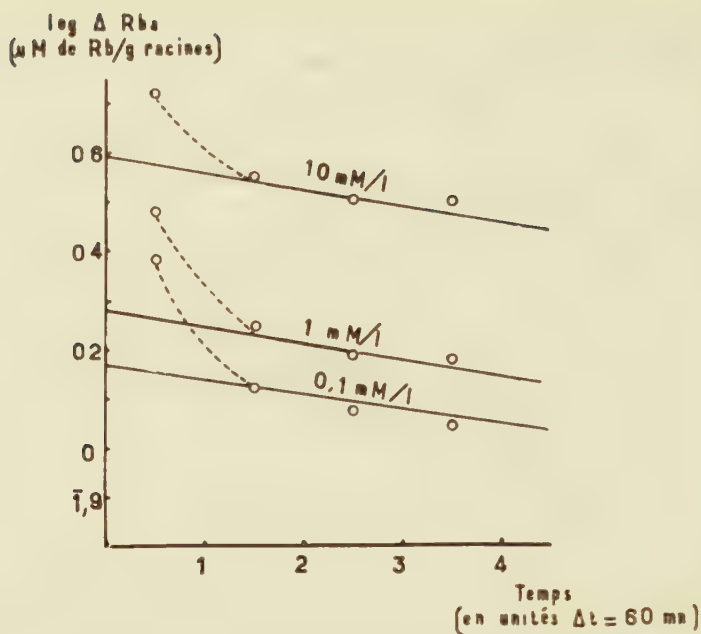


Figure 32 - Variation des $\log \Delta Rb$, en fonction du temps à 5° , pour différentes concentrations.

ΔRb = μM de Rb absorbés pendant des intervalles de temps successifs Δt , de 60 mn. Expérience identique à celle de la figure 30.

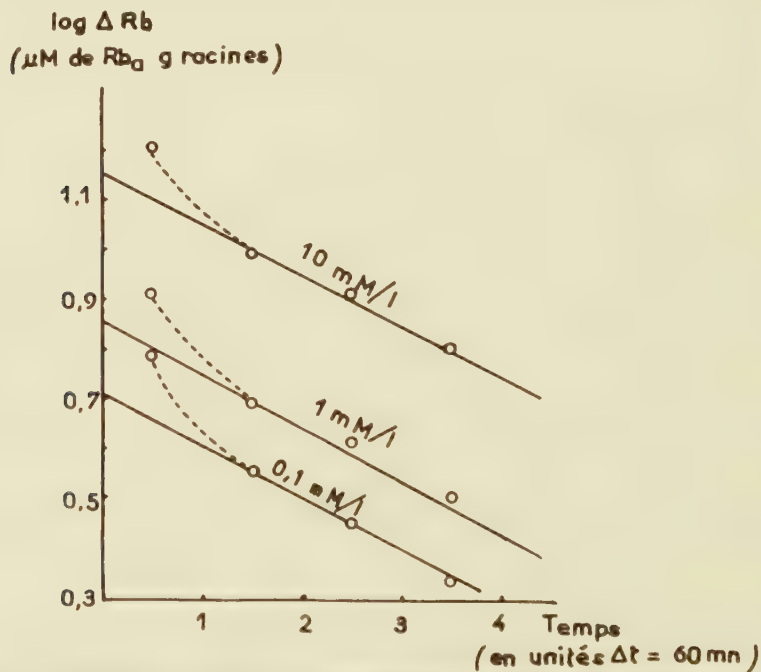


Figure 33 - Variation des $\log \Delta Rb$, en fonction du temps à 20° , pour différentes concentrations.

ΔRb , même signification que dans la figure 32.

Expérience identique à celle de la figure 31.

sont donnés sous forme de $Rb_a = f(t)$ et de $\log \Delta Rb_a = f(t)$ dans les figures 30, 31, 32 et 33. Aux deux températures, les différentes familles de courbes présentent les caractères déjà rencontrés : la pente des courbes $Rb_a = f(t)$ diminue en fonction du temps, et les courbes $\log \Delta Rb_a = f(t)$ sont linéaires et parallèles aux différentes concentrations. Les valeurs des constantes k et Rb_m figurent dans le tableau XI. Elles sont plus faibles pour l'expérience effectuée à basse température. L'augmentation relative des constantes k en fonction de la température est, comme dans l'expérience précédente, nettement supérieure à celle des Rb_m : le rapport $k(20^\circ)/k(5^\circ)$ est égal à 3,15 et celui des Rb_m correspondants atteint au maximum une valeur de 1,21.

Tableau XI

Influence de la température et de la concentration sur la valeur des constantes k et Rb_m .

Expériences identiques à celles des figures 32 et 33.

Concentration (mM/l)	Température d'absorption				Rapport k(20°)/ k(5°)	Rapport Rb _m (20°)/ Rb _m (5°)
	5°	20°	5°	20°		
	Valeur de k		Valeur de Rb _m			
0,1	0,0765	0,241	19,32	21,20	3,15	1,10
1	"	"	24,55	29,61	"	1,21
10	"	"	54,00	60,06	"	1,11

RESUME ET CONCLUSIONS

L'absorption du Rb par des racines excisées d'Orge a été suivie en fonction de la température, du temps et de la concentration.

1/ Dans la gamme de températures 5°-25° l'absorption en fonction du temps suit la relation :

$$Rb_a = Rb_m(1 - e^{-kt})$$

(Rb_a = quantité de Rb absorbée pendant le temps t ; Rb_m = quantité maximale théorique de Rb susceptible d'être absorbée avec le temps ; k = constante de la vitesse).

2/ Les deux constantes k et Rb_m augmentent en fonction de la température, mais l'augmentation de Rb_m est relativement plus faible.

3/ Les Q_{10} des vitesses moyennes de l'absorption non exsorbable, pour des intervalles de temps consécutifs, diminuent en fonction du temps. Ces Q_{10} et ceux des constantes k varient en sens inverse des températures prises en considération dans leur calcul.

4/ A 0° la vitesse d'absorption, pratiquement constante entre 30 et 120 mn, manifeste une diminution sensible par la suite.

5/ Il a été démontré que la diminution, en fonction du temps, des valeurs des Q_{10} correspondant aux vitesses moyennes d'absorption, découle des observations 1 et 2. D'autres aspects relatifs à la variation du Q_{10} seront abordés dans la discussion générale.

CHAPITRE VII

ABSORPTION EN FONCTION DE LA CONCENTRATION

Dans le présent chapitre nous examinerons l'influence de la concentration sur l'absorption brute à 25° ou 30°, au cours de durées d'absorption supérieures à 30 mn.

Il y a en effet, intérêt à effectuer l'analyse cinétique de l'absorption en fonction de la concentration dans des conditions où l'absorption se poursuit à l'état de régime ; c'est-à-dire dans des conditions où elle est irréversible et sa vitesse est constante. La donnée expérimentale s'en rapprochant le plus est, soit l'absorption résiduelle, soit l'absorption brute pendant la troisième phase (après la 30ème minute environ) où l'exsorption intervient peu. Nous avons renoncé à utiliser l'absorption résiduelle, bien que souvent linéaire pendant la première demi-heure, à cause des irrégularités qu'elle manifeste assez fréquemment précisément durant cette période (figure 20). Pendant la troisième phase, la vitesse d'absorption varie continuellement en fonction du temps. Cependant, nous avons vu, en conclusion du chapitre V, qu'on pouvait considérer comme représentative de la vitesse, la quantité absorbée pendant n'importe quel intervalle de temps supérieur à 30 mn : il faut évidemment que cet intervalle soit le même pour toutes les concentrations. C'est ce que nous avons fait dans le présent chapitre.

I - PRINCIPE DE L'ANALYSE CINETIQUE

Plusieurs travaux récents comparent la cinétique d'absorption à celle des réactions enzymatiques (Helder 1952, Epstein et Hagen 1952, Hagen et Hopkins 1955, Fried et coll. 1958, Bange 1959). Rappelons en brièvement son principe.

L'hypothèse de base assimile l'absorption à une combinaison réversible suivie d'une dissociation irréversible entre l'ion et son vecteur ; c'est cette dernière réaction qui mène à l'absorption proprement dite. Ainsi dans le cas d'un cation $M^+(1)$:



On suppose en outre la réaction (1) est presque instantanée, par conséquent c'est la vitesse de la réaction (2) qui détermine la vitesse d'absorption.

(1) Symboles utilisés : M_0^+ = cation dans la solution extérieure ; M_a^+ = cation absorbé ; R^- = vecteur ; R_t^- = R^- total ; R_l^- = R^- à l'état libre ; MR = complexe cation-vecteur ; K = constante de Michaelis = l'inverse de la constante d'équilibre de la réaction (1) ; k = constante de vitesse de la réaction (2) ; v = vitesse d'absorption ; V = vitesse maximale d'absorption ; les crochets [] indiquent des concentrations.

Celle-ci est proportionnelle à [MR] ce qui permet d'écrire :

$$v = k [MR] \quad (3)$$

La vitesse maximale V, est atteinte lorsque la concentration de MR devient maximale, autrement dit lorsque toute la masse de vecteur est sous la forme de MR. Il s'ensuit :

$$V = K [R_1^-] \quad (4)$$

Cette condition est théoriquement remplie pour des concentrations infiniment grandes de M_e^+ ; en pratique il suffit que ces concentrations soient suffisamment élevées.

La loi d'action de masse appliquée à la réaction (1) donne à l'équilibre :

$$\frac{[M_e^+][R_1^-]}{[MR]} = K_M \quad (5)$$

Substituons ($R_1^- - MR$) à R_1^- dans cette dernière équation, on obtient après transposition des termes :

$$\frac{[M_e^+] + K_M}{[M_e^+]} = \frac{[R_1^-]}{[MR]} \quad (6)$$

Comme d'après les équations (3 et (4)

$$\frac{V}{v} = \frac{[R_1^-]}{[MR]} \quad (7)$$

on obtient finalement l'équation de Michaélis-Menten

$$v = \frac{V [M_e^+]}{[M_e^+] + K_M} \quad (8)$$

Cette équation peut être mise sous les formes

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V} \left(1 + \frac{K_M}{[M_e^+]} \right) \text{ (Méthode de Lineweaver et Burk 1937)} \quad (9)$$

et

$$v = V - K_M \frac{v}{[M_e^+]} \text{ (Méthode de Hofstee 1952)} \quad (10)$$

Ces deux transformations permettent de vérifier rapidement si la cinétique d'une réaction est du type Michaelis-Menten car les graphiques $\frac{1}{v} = f\left(\frac{1}{[M_e^+]}\right)$ ou $v = f\left(\frac{v}{[M_e^+]}\right)$ donnent des droites. Les constantes V et K_M sont déterminées d'après les ordonnées et les abscisses à l'origine.

Lorsque l'absorption est simultanément régie par deux vecteurs, R_1^- et R_2^- , la vitesse totale d'absorption, v_t sera évidemment égale à la somme des vitesses v_1 et v_2 . L'expression graphique de $v_t = f\left(\frac{v_t}{[M_e^+]}\right)$ est une courbe hyperbolique (figure 34) susceptible d'être décomposée en deux droites, correspondant à chacune des deux réactions (Hofstee 1952).

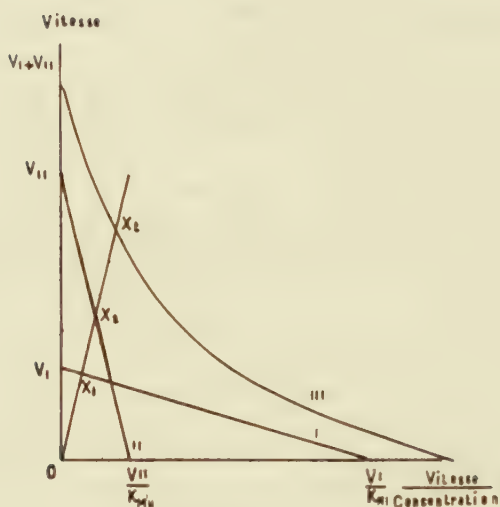


Figure 34 - Représentation graphique de la fonction : $vitesse = f\left(\frac{vitesse}{Concentration}\right)$ de deux réactions type Michaelis-Menten utilisant le même substrat. Les courbes I et II correspondent aux réactions séparées, la courbe III à la réaction globale. Les droites OX_I et OX_{II} correspondent à des milieux de même concentration, et l'on démontre par passage en coordonnées polaires que le lieu de X_t , tel que $OX_t = OX_I + OX_{II}$, est une hyperbole.

II - RESULTATS EXPERIMENTAUX

Deux séries d'expériences ont été réalisées : l'une avec l'ion Rb^+ , sur des racines excisées d'Orge, l'autre avec les ions Na^+ et K^+ , sur des racines excisées d'Orge et de Maïs. En ce qui concerne la deuxième série, des essais préliminaires ont montré que l'absorption du Na et du K en fonction du temps par ces deux organes présente en première approximation les mêmes caractères que l'absorption du Rb par des racines d'Orge.

1 - Expériences réalisées avec l'ion Rb^+

Les résultats de trois expériences caractéristiques sont consignés aux figures 35, 36 et 37.

La courbe de la figure 35 est la plus typique correspondant à environ 60 % des expériences. Après une partie curviligne, cette courbe présente, et ceci pour une gamme de concentrations assez étendue (entre 5 et 30 ou 40 mM/l), une partie où la valeur de la tangente diminue très peu en fonction de la concentration. La courbe de la figure 36 présente, à partir de 10 mM/l, une partie ondulée où la valeur de la tangente augmente puis diminue en fonction de la concentration. Celle de la figure 37 montre aussi une augmentation de la valeur de la tangente après 8 mM/l ; entre 3 et 8 mM/l, l'absorption croît très peu en fonction de la concentration et, si des concentrations supérieures à 8 mM/l n'avaient pas été employées, on aurait eu l'impression d'avoir presque atteint l'asymptote horizontale de la courbe. Ce point est important et nous y reviendrons dans la discussion générale.

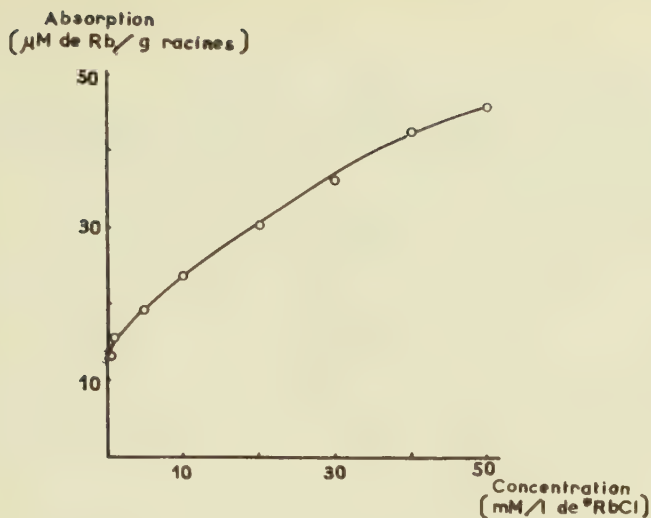


Figure 35 - Absorption du Rb en fonction de la concentration (racines d'Orge).
Durée de l'absorption = 75 mn.

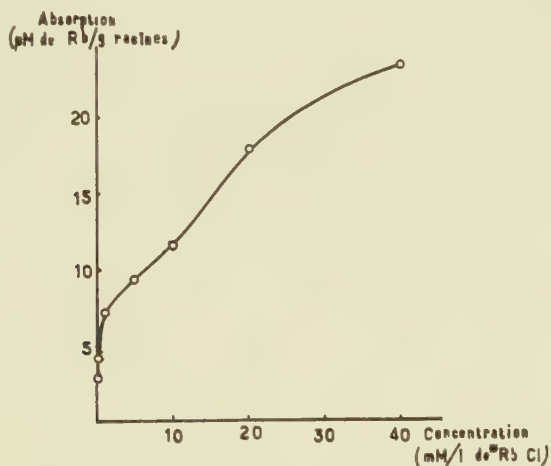


Figure 36 - Absorption en Rb en fonction de la concentration (racines d'Orge).
Durée de l'absorption = 60 mn.

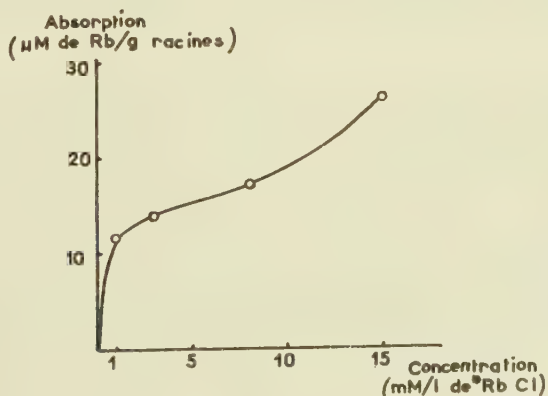


Figure 37 - Absorption du Rb en fonction de la concentration (racines d'Orge).
Durée de l'absorption 120 mn.

Les intervalles de concentration auxquels les différentes parties des courbes correspondent, peuvent varier d'une expérience à l'autre.

2 - Expériences réalisées avec les ions Na^+ et K^+

Ces expériences ont été effectuées avec la "Technique A" à 30° . La durée de l'absorption est invariablement de trois heures. Les résultats sont consignés à la figure 38 et au tableau XIV : les différentes courbes de la figure 38 ont des points communs soit avec celle de la figure 35, soit avec celle de la figure 36 : la courbe d'absorption du K par le Maïs présente une phase ondulée ; les trois autres possèdent, dans des intervalles de concentration variables avec la courbe, une partie où la valeur de la tangente varie très peu. Les concentrations correspondant à cette partie se situent dans le cas de l'Orge entre 20 et 50 mM/l, et dans le cas du Maïs (Na) entre 1 et 30 mM/l.

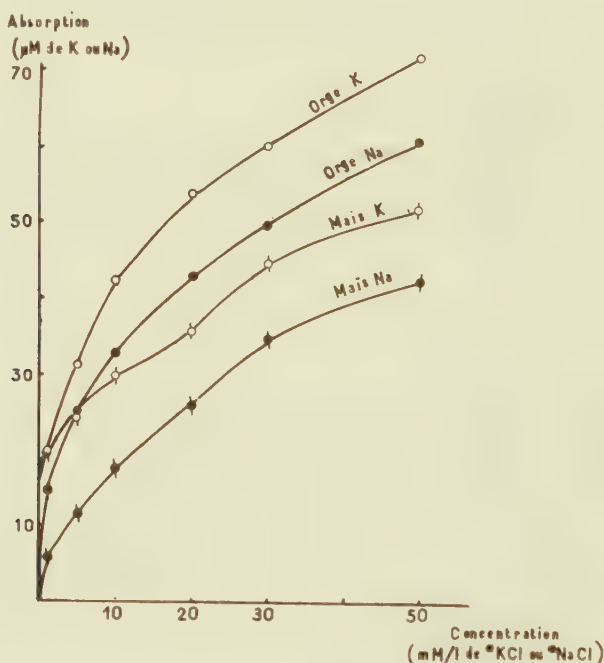


Figure 38 - Absorption du K ou du Na en fonction de la concentration (racines d'Orge ou de Maïs).

Durée de l'absorption = 180 mn.

III - DISCUSSION

En dépit de leurs propres particularités les différentes courbes présentées ci-dessus ont en commun le caractère suivant : la première phase curviligne est dans tous les cas suivie d'une phase où la valeur de la tangente

reste presque constante ou même augmente pour diminuer à nouveau dans les concentrations plus élevées. Ce fait nous permet dès maintenant de rejeter l'hypothèse d'une cinétique d'absorption identique à celle d'une seule réaction enzymatique, car, dans ce cas, la valeur de la tangente devrait diminuer continuellement. En effet la dérivée de la vitesse v de l'équation (8) :

$$v = \frac{V [M_e^+]}{[M_e^+] + K_M}$$

est égale à

$$v' = \frac{VK_M}{([M_e^+] + K_M)^2}$$

qui diminue quand $[M_e^+]$ augmente.

La non conformité de l'absorption à une cinétique type Michaelis-Menten pour une seule réaction est d'ailleurs démontrée dans les figures 39 et 40 où les données des figures 35 et 38 sont présentées sous forme de $M_a^+ = f\left(\frac{M_e^+}{[M_e^+]}\right)$.

Les différentes courbes ont une allure hyperbolique et non linéaire. Elles rappellent la courbe $v_t = f\left(\frac{v_t}{[M_e^+]}\right)$ décrite plus haut (figure 34) pour deux réactions enzymatiques utilisant le même substrat. Cette courbe, nous l'avons vu, peut être décomposée en deux droites représentatives de chacune des réactions. Dans notre tentative de réaliser une décomposition semblable des courbes expérimentales, il a été constaté que, dans la plupart des cas, la valeur des constantes V et K_M dépendait des points choisis sur les courbes pour les déterminer. Un exemple typique de ce phénomène est présenté ci-dessus. Les données utilisées pour les calculs des constantes ont été relevées dans la figure 41.

Segment de la courbe ayant servi à l'évaluation des constantes	Valeurs des constantes			
	V_1	V_2	K_{M_1}	K_{M_2}
A - G	22	125	0,81	125
C - G	17	35,5	0,45	17,8

Ces résultats sont peu compatibles avec l'hypothèse de deux vecteurs, à moins que les constantes V ou K_M soient très différentes dans les deux réactions : les erreurs expérimentales commises ne permettraient pas, dans ce cas, d'évaluer les constantes à partir d'un segment restreint de la courbe $M_a^+ = f\left(\frac{M_e^+}{[M_e^+]}\right)$.

Cette hypothèse nous paraît cependant peu satisfaisante sous cette forme. D'une part, elle ne rend pas compte des courbes présentant des segments ondulés, d'autre part, on pourrait émettre d'autres hypothèses pour expliquer la forme des courbes : une de ses hypothèses serait de supposer l'existence de plusieurs réactions, ayant une cinétique plus ou moins voisine de celle de Michaelis-Menten, dont la somme donnerait des courbes semblables. De plus, l'angle voisin de l'angle droit, formé par le prolongement des deux branches des courbes $M_a^+ = f\left(\frac{M_e^+}{[M_e^+]}\right)$ (figure 39) suggère que certaines de ces

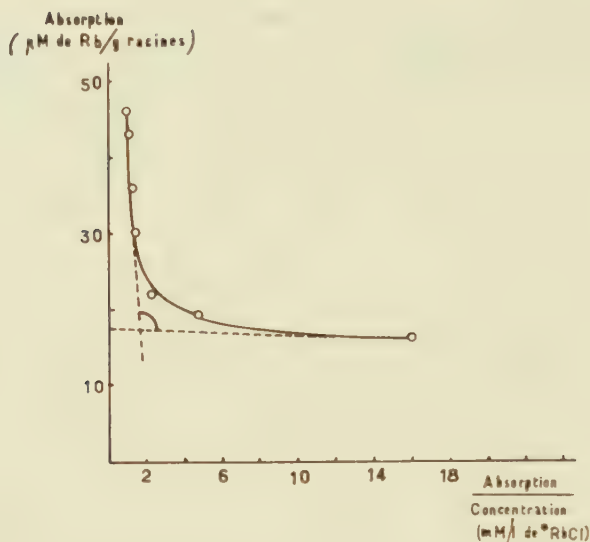


Figure 39 - Absorption du Rb en fonction de la concentration (racines d'Orge).

Résultats présentés sous forme de : $\text{absorption} = f\left(\frac{\text{absorption}}{\text{concentration}}\right)$.

Expérience identique à celle de la figure 35.

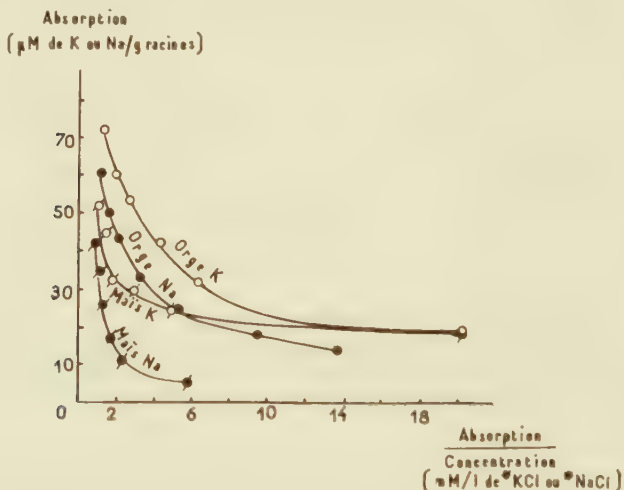


Figure 40 - Absorption du K ou du Na en fonction de la concentration (racines d'Orge ou de Maïs).

Résultats présentés sous forme de : $\text{absorption} = f\left(\frac{\text{absorption}}{\text{concentration}}\right)$.

Expériences identiques à celles de la figure 38.

Notations : o = racines d'Orge, ion K^+

● = " " " " Na^+

○ = " de Maïs, ion K^+

● = " " " " Na^+

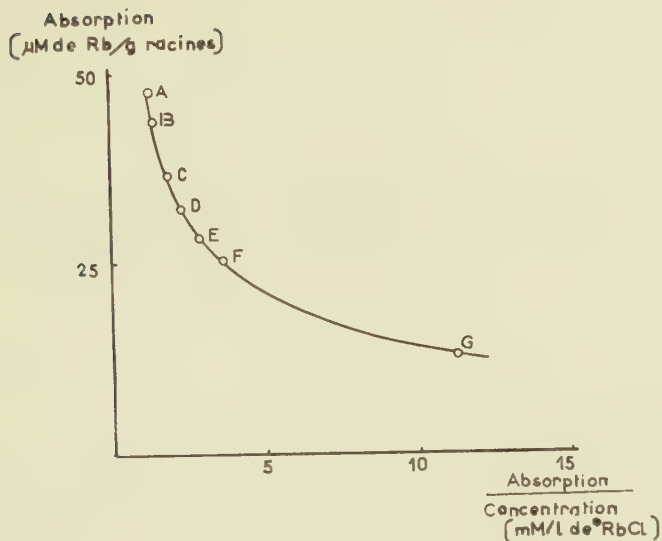


Figure 41 - Absorption en fonction de la concentration (racines d'Orge).
Durée de l'absorption $\pm$ 120 mn.

Résultats présentés sous forme de : $\text{absorption} = f \left(\frac{\text{absorption}}{\text{concentration}} \right)$.

réactions atteindraient leurs vitesses maximales aux faibles concentrations, les autres aux concentrations plus élevées. Cette hypothèse sera examinée plus en détail dans la discussion générale.

RESUME et CONCLUSIONS

L'absorption des ions alcalins Rb^+ , K^+ et Na^+ par des racines d'Orge ou de Maïs a été étudiée en fonction de la concentration. Les courbes obtenues sont incompatibles avec l'hypothèse d'une cinétique d'absorption suivant celle d'une réaction enzymatique simple. L'hypothèse de deux réactions d'absorption type Michaelis-Menten pourrait à la rigueur expliquer certains résultats, mais non tous. De plus, d'autres hypothèses semblent aussi plausibles. Une de ces hypothèses serait l'existence de plusieurs réactions d'absorption ayant des constantes différentes. Nous y reviendrons dans la discussion générale.

CHAPITRE VIII

INTERACTION DES IONS ALCALINS



I - PRINCIPE DE L'ANALYSE CINÉTIQUE

De même que la cinétique d'absorption en fonction de la concentration est comparée à celle des réactions enzymatiques, de même les interactions des ions de même famille chimique sont souvent comparées aux phénomènes d'inhibitions rencontrées dans ces réactions.

L'analyse cinétique des réactions d'inhibition repose sur les principes exposés dans le chapitre précédent pour les réactions enzymatiques simples. On considère qu'ici aussi les réactions principales appliquées à l'absorption sont⁽¹⁾ :



L'inverse de la constante d'équilibre de la réaction (1) est :

$$K_M = \frac{[\text{M}_s^+][\text{R}_i^-]}{[\text{MR}]} \quad (3)$$

La vitesse d'absorption est :

$$v = k [\text{MR}] \quad (4)$$

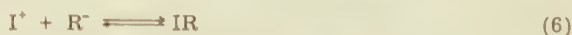
et la vitesse maximale de la réaction non inhibée

$$V = k (\text{R}_i^-) \quad (5)$$

L'inhibition en présence de l'ion interférent se traduit en une réduction de la concentration de MR par rapport au témoin.

Deux types d'inhibition sont les plus communs :

L'inhibition compétitive : l'ion interférent I^+ se combine avec R^- sur le même locus que M_s^+ . On obtient :



L'inverse de la constante d'équilibre de cette réaction est égal à :

(1) Symboles utilisés; M_s^+ = cation de l'extérieur étudié au principal; M_i^+ = cation absorbé; I^+ = cation interférent; R^- = vecteur; $\text{R}_i^- = \text{R}^-$ à l'état libre; $\text{R}_t^- = \text{R}^-$ total; MR, IR, RI, MRI* = complexes cations-vecteurs; v = vitesse d'absorption de M_s^+ ; V = v maximale de l'absorption non inhibée; K_M = inverse de la constante d'équilibre de la réaction (1); K_I = inverse de la constante d'équilibre des réactions (7), (13) ou (14); k = constante de vitesse de la réaction (2); les crochets [] indiquent des concentrations.

$$K_I = \frac{[I^+][R_l^-]}{[IR]} \quad (7)$$

et

$$[MR] = [R_l^-] - [IR] - [R_l^-] \quad (8)$$

Les deux dernières équations permettent d'exprimer R_l^- en fonction de R_l^- , MR , K_I et I^+ . Substituons cette valeur de R_l^- dans l'équation (3), et, compte tenu de ce que d'après les équations (4) et (5)

$$\frac{R_t}{MR} = \frac{V}{v} \quad (9)$$

nous obtenons :

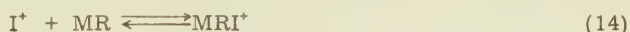
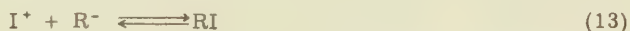
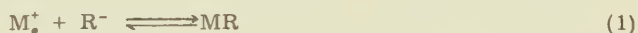
$$v = \frac{V [M_o^+] K_I}{[M_o^+] K_I + K_M K_I + K_M [I^+]} \quad (10)$$

L'équation (10) peut être mise sous forme de

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V} + \frac{K_M}{V [M_o^+]} \left(1 + \frac{[I^+]}{K_I}\right) \text{ (méthode de Lineweaver et Burk 1934)} \quad (11)$$

$$v = V - \frac{v K_M}{[M_o^+]} \left(1 + \frac{[I^+]}{K_I}\right) \text{ (méthode de Hofstee 1952)} \quad (12)$$

L'inhibition non compétitive : l'ion interférant I^+ se combine avec le vecteur R^- sur un locus différent de M^+ et, de ce fait, rend inactif non seulement une partie de R_l^- , mais aussi une partie de MR . Les réactions qui ont lieu sont :



L'association de I^+ avec R^- ou MR s'effectue sur le même locus ; on suppose par conséquent aux réactions (13) et (14) une même constante d'équilibre. L'inverse de cette constante est :

$$K_I = \frac{[R_l^-][I^+]}{[RI]} = \frac{[MR][I^+]}{[MRI^+]} \quad (15)$$

La concentration de MR est

$$[MR] = [R_l^-] - [R_l^-] - [RI] - [MRI^+] \quad (16)$$

Par des raisonnements et des substitutions analogues aux précédents on aboutit à :

$$v = \frac{V [M_o^+] K_I}{K_I K_M + [I^+] K_M + K_I [M_o^+] + [I^+] [M_o^+]} \quad (17)$$

L'équation (17) donne après permutation des termes :

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V} \left(1 + \frac{[I^+]}{K_I}\right) + \frac{K_M}{V [M_o^+]} \left(1 + \frac{[I^+]}{K_I}\right) \quad (18)$$

ou

$$v = \frac{V K_I}{[I^*] + K_I} - \frac{v K_M}{[M_0^*]} \quad (19)$$

Les graphiques de $\frac{1}{v} = f\left(\frac{1}{[M_0^*]}\right)$ et de $v = f\left(\frac{v}{[M_0^*]}\right)$ pour une absorption suivant la cinétique d'une réaction enzymatique simple, sont, nous l'avons vu, linéaires. Les équations (11), (12), (18) et (19) montrent qu'il en est de même pour l'absorption inhibée. De plus, pour une absorption inhibée compétitivement, la valeur de l'ordonnée à l'origine des droites : $\frac{1}{v} = f\left(\frac{1}{[M_0^*]}\right)$ ou $v = f\left(\frac{v}{[M_0^*]}\right)$ est identique à celles des témoins (pour ces derniers, nous rappelons, $\frac{1}{v} = \frac{1}{V} + \frac{K_M}{V [M_0^*]}$ et $v = V - \left(\frac{K_M v}{[M_0^*]}\right)$; par contre dans le cas d'une inhibition non compétitive, la valeur de l'ordonnée à l'origine varie. Il s'ensuit de ces deux constatations que la vitesse maximale de l'absorption inhibée compétitivement, est égale à celle du témoin, celle de l'absorption inhibée non compétitivement est toujours inférieure.

La cinétique considérée plus haut est valable seulement pour des réactions d'inhibitions suivant rigoureusement les suppositions de Michaelis-Menten. Si ces suppositions ne sont plus valables, les équations peuvent être beaucoup plus compliquées (Laidler 1958). Néanmoins si nous donnons aux deux types d'inhibition une définition plus générale, soit :

Inhibition compétitive : l'ion interférant rend inactif (réversiblement) R⁺ mais non MR,

Inhibition non compétitive : l'ion interférant rend inactif (réversiblement) au moins MR, il est aisé de démontrer, nous y reviendrons, la validité de la conclusion énoncée plus haut sur les vitesses maximales des réactions inhibées compétitivement et non compétitivement.

II - RESULTATS EXPERIMENTAUX

Deux séries d'expériences ont été réalisées. Dans l'une j'ai étudié l'action du Na sur l'absorption du Rb par des racines d'Orge, dans l'autre celle du Na et du K sur leur absorption réciproque par des racines d'Orge et de Maïs. Dans chaque expérience, l'ion étudié au principal est isotopiquement marqué, l'ion interférant, ne l'est pas. Seule l'absorption du premier a été mesurée.

1 - Influence du Na sur l'absorption du ⁸⁶Rb

Deux expériences démonstratives sont présentées à ce sujet. Dans la première (tableau XII et figure 42 et 43) la concentration en NaCl varie de 0.1 à 10 mM/l, celles en ⁸⁶RbCl sont respectivement 0.1 et 1 mM/l ; dans la deuxième (tableau XIII et figure 44) la concentration en ⁸⁶RbCl varie de 0.1 à 20 mM/l, celle en NaCl étant nulle ou restant constante (10 mM/l).

On constate que :

1/ le Na inhibe l'absorption du Rb, et cela quelle que soit la concentration en l'un ou l'autre ion (tableaux XII et XIII, figure 42) ;

Tableau XII

Influence de la concentration en NaCl sur l'absorption et l'exsorption du Rb

Durée de l'absorption = 75 mn. Résultats : μM de Rb/g racines.

Concentration en RbCl (mM/l)		Concentration en NaCl (mM/l)				
		0	0,1	1	5	10
0,1	Absorption brute	9,73	7,76	4,77	2,80	2,43
"	" résiduelle (exs eau)	8,81	6,96	4,05	2,22	1,98
"	" " (exs RbCl)	7,85	6,07	3,42	1,73	1,49
"	Exsorption (eau)	0,92	0,80	0,72	0,58	0,45
"	" (RbCl)	1,88	1,69	1,35	1,07	0,94
1	Absorption brute	11,68	10,61	6,75	4,74	4,24
"	" résiduelle (exs eau)	9,80	8,80	5,23	3,35	3,12
"	" " (exs RbCl)	8,76	7,95	4,09	2,71	2,44
"	Exsorption (eau)	1,88	1,81	1,52	1,39	1,12
"	" (RbCl)	2,92	2,66	2,66	2,03	1,80

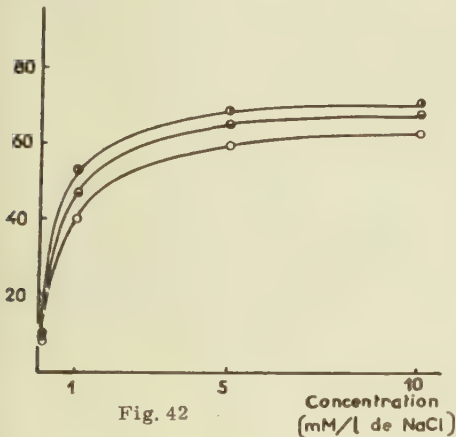
Inhibition
(en pourcentage)

Fig. 42

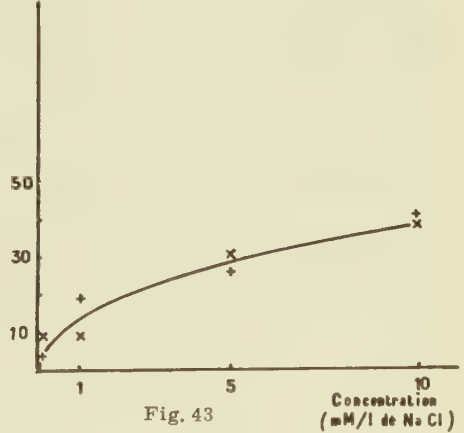
Inhibition
(en pourcentage)

Fig. 43

Figure 42 - Absorption du Rb en fonction de la concentration en NaCl.
Concentration en $\text{RbCl} = 1 \text{ mM/l}$.

Résultats exprimés en pourcentage d'inhibition par rapport au témoin.
Expérience identique à celle du tableau XII.

Notations : $\circ$ = absorption brute
 $\bullet$ = " résiduelle (exs eau)
 $\ominus$ = " " (exs RbCl).

Figure 43 - Inhibition du Rb exsorbable en fonction de la concentration en NaCl.
Concentration en $\text{RbCl} = 1 \text{ mM/l}$.

Résultats exprimés en pourcentage d'inhibition par rapport au témoin.
Données traduites du tableau XII.

Notations : + = exsorption dans l'eau
 x = " " une solution de RbCl.

Tableau XIII

Influence du Na sur l'absorption et l'exsorption du Rb, en fonction de la concentration en RbCl.

Concentration en Na = 10 mM/l. Durée de l'absorption = 75 mn. Résultats exprimés en μM de Rb/g racines et en pourcentages d'inhibition.

	NaCl	Concentration en RbCl (mM/l)				
		0,1	1	5	10	20
Absorption brute	0	10,09	13,41	14,91	18,62	22,03
" "	+	2,53	4,70	6,50	9,30	12,71
Différence		7,56	8,71	8,41	9,32	9,32
% d'inhibition		75	69	56,5	50	42
Absorption résiduelle (exs eau)	0	8,75	11,14	12,00	14,28	15,67
" " "	+	1,89	3,36	4,56	5,99	7,56
Différence		6,86	7,78	7,44	8,29	8,11
% d'inhibition		78	70	62	58	52
Absorption résiduelle (exs RbCl)	0	7,71	9,80	9,82	11,89	13,38
" " "	+	1,24	2,38	2,94	4,45	6,06
Différence		6,47	7,42	6,88	7,44	7,32
% d'inhibition		84	76	70	62,5	55
Exsorption (eau)	0	1,34	2,27	2,91	4,34	6,36
" "	+	0,64	1,34	1,94	3,31	5,15
Différence		0,70	0,93	0,97	1,03	1,21
% d'inhibition		52	46	33	24	13
Exsorption (RbCl)	0	2,38	3,61	5,09	6,73	8,65
" "	+	1,29	2,32	3,56	4,85	6,65
Différence		1,09	1,29	1,53	1,88	2,05
% d'inhibition		46	36	30	28	23

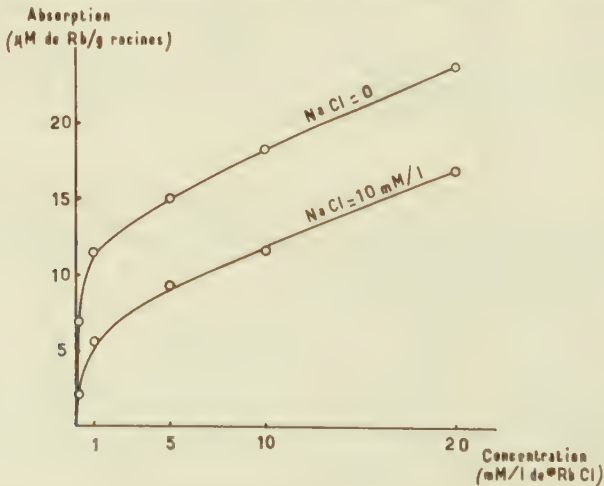


Figure 44 - Influence du Na sur l'absorption (brute) de Rb en fonction de la concentration en RbCl.

Expérience identique à celle du tableau XIII.

2/ l'inhibition augmente avec la concentration en NaCl (tableau XII), mais l'inhibition relative, exprimée par le rapport de l'augmentation de l'inhibition à celle de la concentration de l'ion interférant $\left(\frac{d \text{ (inhibition)}}{d \text{ (concentration)}}\right)$ diminue et tend vers 0 ; les courbes de la figure 42 qui donnent les pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration ont une pente décroissante et tendent vers une asymptote horizontale ;

3/ l'inhibition varie en sens inverse de la concentration en RbCl (tableau XIII) ;

4/ lorsque la concentration en Na est fixe, la différence entre les quantités respectivement absorbées par les témoins et les sujets traités pour différentes concentrations en RbCl croît entre 0,1 et 5 mM/l ; mais, à partir de cette concentration elle reste à peu près du même ordre de grandeur (tableau XIII), autrement dit, les courbes d'absorption des témoins et des sujets traités, en fonction de la concentration de l'ion étudié au principal, s'écartent d'abord mais tendent à devenir parallèles ensuite (figure 44). Cela est valable aussi bien pour l'absorption brute que pour les absorptions résiduelles (exs eau et exs RbCl) (tableau XIII) ;

5/ le Na diminue également les quantités de Rb ultérieurement exsorbees (tableau XII et XIII et figure 43). Ici aussi la diminution varie en sens direct de la concentration en l'ion interférant (tableau XII) et en sens inverse de celle de l'ion étudié au principal (tableau XIII). Cependant les pourcentages de diminution des quantités ultérieurement exsorbees sont inférieurs aux pourcentages d'inhibition de l'absorption résiduelle, et cela dès les plus faibles concentrations en $^*\text{RbCl}$ employées (tableau XIII) ;

6/ les pourcentages d'inhibition du Rb exsorbable dans l'eau et dans une solution du RbCl sont à peu près du même ordre de grandeur (figure 43).

2 - Influence du Na et du K sur leur absorption mutuelle

Les expériences ci-dessous ont été réalisées sur des racines d'Orge et de Maïs avec la "Technique A" à 30 %. La concentration en l'ion étudié au principal varie entre 1 et 30 ou 50 mM/l. Deux concentrations en l'ion interférant sont employées, 8 et 24 mM/l. Les résultats sont présentés au tableau XIV et aux figures 45 à 48.

On retrouve ici quelques-uns des résultats obtenus dans les expériences précédentes :

1/ l'ion interférant inhibe l'absorption de l'ion étudié au principal ;

2/ l'inhibition augmente en fonction la concentration en l'ion interférant, mais l'inhibition relative diminue ;

3/ l'inhibition varie en sens inverse de la concentration en l'ion étudié au principal ;

4/ pour une concentration donnée en l'ion interférant, la différence entre témoins et sujets traités devient à partir d'une certaine concentration en l'ion étudié au principal, à peu près constante, donc indépendante de ce facteur ; autrement dit à partir d'une certaine concentration en l'ion étudié au principal, les courbes d'absorption en fonction de ce facteur deviennent sensiblement parallèles (figures 45 à 48).

Des variations quantitatives et d'autres particularités sont à relever

Tableau XIV

Influence du Na et du K sur leur absorption mutuelle par des racines d'Orge et de Maïs.

Durée de l'absorption = 180 mn.

Racines d'Orge

Exp. A N°	Concentration en NaCl (mM/l)	Concentration en KCl (mM/l)					
		1	5	10	20	30	50
µM de K absorbés/g racines							
1	0	20,13	31,76	42,84	54,05	60,43	72,07
2	8	8,21	16,60	22,22	33,15	41,09	50,59
3	24	6,10	10,66	19,48	25,24	33,46	40,35
Différence entre 1 et 2		11,92	15,16	20,62	20,90	19,34	21,48
% d'inhibition de 2		59	48	48	39	32	30
Inhibition relative ⁽¹⁾		1,49	1,89	2,58	2,61	2,42	2,68
Différence entre 1 et 3		14,03	21,10	23,36	28,81	26,97	31,72
% d'inhibition de 3		70	56,5	54,5	53	45	44
Inhibition relative		0,58	0,68	0,88	1,20	1,12	1,32
Exp. B N°	Concentration en KCl (mM/l)	Concentration en NaCl (mM/l)					
		1	2	5	10	20	30
µM de Na absorbés/g racines							
1	0	14,64	18,83	25,21	33,17	43,20	50,00
2	8	9,47	12,51	20,18	27,66	36,23	43,05
3	24	4,94	9,58	19,31	28,03	37,53	42,38
Différence entre 1 et 2		5,17	6,32	5,03	5,51	6,97	6,95
% d'inhibition de 2		35	34	20	17	16	14
Inhibition relative		0,65	0,79	0,63	0,69	0,86	0,86
Différence entre 1 et 3		9,70	9,25	5,90	5,14	5,67	7,62
% d'inhibition de 3		66	49	23,5	15,5	13	15
Inhibition relative		0,40	0,39	0,25	0,21	0,24	0,32

Racines de Maïs

Exp. C N°	Concentration en NaCl (mM/l)	Concentration en KCl (mM/l)					
		1	5	10	20	30	50
µM de K absorbés g/racines							
1	0	19,90	24,78	30,17	36,25	44,87	52,16
2	8	16,35		27,42	31,62	41,35	49,16
3	24	10,81	19,51	23,07	28,55	39,22	45,96
Différence entre 1 et 2		3,55		2,75	4,63	3,52	3,00
% d'inhibition de 2		18		9	13	8	6
Inhibition relative		0,44		0,34	0,58	0,44	0,38
Différence entre 1 et 3		9,09	5,27	7,10	7,70	5,65	6,20
% d'inhibition de 3		46	21	24	22	13	12
Inhibition relative		0,38	0,22	0,30	0,32	0,24	0,26
Exp. D N°	Concentration en KCl (mM/l)	Concentration en NaCl (mM/l)					
		1	5	10	20	30	50
µM de Na absorbés/g racines							
1	0	5,81	11,45	17,63	26,94	34,84	42,51
2	8	2,36	7,36	13,55	19,79	27,00	37,58
3	24	1,81	4,81	10,62	13,42	23,77	29,99
Différence entre 1 et 2		3,45	4,09	4,08	7,15	7,84	5,93
% d'inhibition de 2		59	36	23	26,5	22,5	12
Inhibition relative		0,43	0,51	0,51	0,88	0,98	0,74
Différence entre 1 et 3		4,00	6,64	7,01	13,52	11,07	12,52
% d'inhibition de 3		69	58	40	50	32	30
Inhibition relative		0,17	0,28	0,29	0,56	0,46	0,52

(1) Inhibition relative : $\frac{\text{absorption par le témoin} - \text{absorption par le sujet traité}}{\text{concentration de l'ion interférant}}$

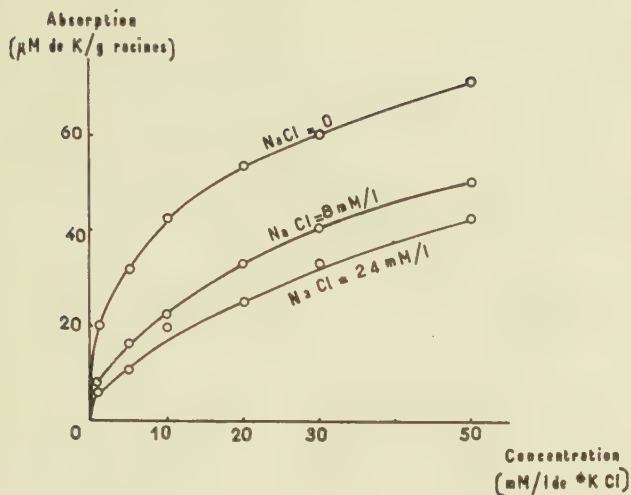


Figure 45 - Influence du Na sur l'absorption du K en fonction de la concentration en KCl (racines d'Orge).

Expérience identique à l'expérience A du tableau XIV.

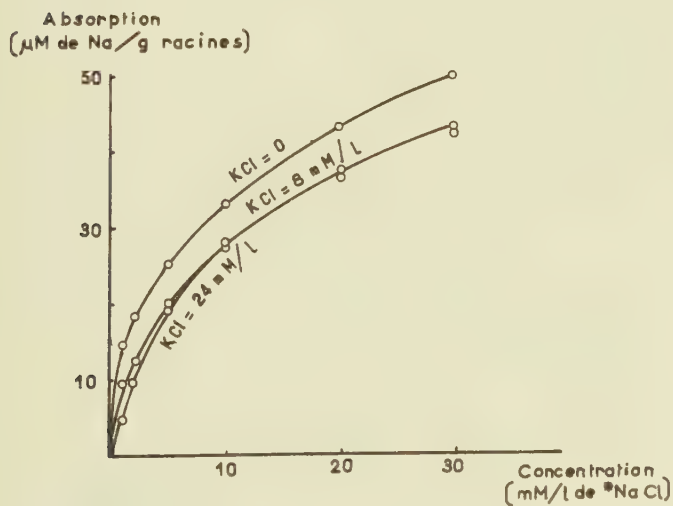


Figure 46 - Influence du K sur l'absorption du Na en fonction de la concentration en NaCl (racines d'Orge).

Expérience identique à l'expérience B du tableau XIV.

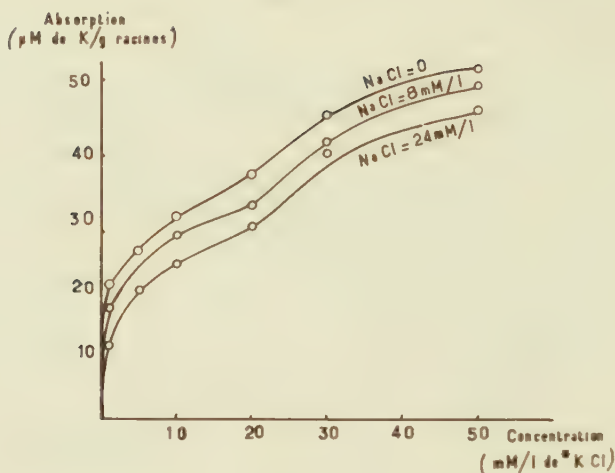


Figure 47 - Influence du Na sur l'absorption du K en fonction de la concentration en KCl (racines de Maïs).
Expérience identique à l'expérience C du tableau XIV.

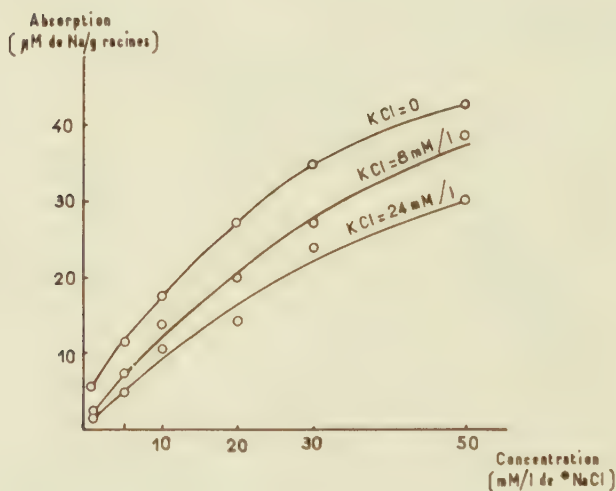


Figure 48 - Influence du K sur l'absorption du Na en fonction de la concentration en NaCl (racines de Maïs).
Expérience identique à l'expérience D du tableau XIV.

d'une expérience à l'autre : dans les expériences A et D, la distance entre les courbes des témoins et celles des sujets traités, augmente avec la concentration en l'ion étudié au principal, pour devenir maximale lorsque les courbes deviennent parallèles ; par contre, dans les expériences B et C, cette distance atteint son maximum à des concentrations plus faibles, puis diminue au fur et à mesure où les courbes deviennent parallèles. Dans l'expérience B, et avec 24 mM/l d'ion interférant (K), l'inhibition n'est accentuée (par rapport aux sujets traités avec 8 mM/l de KCl) que dans les faibles concentrations en NaCl, mais elle reste au même niveau pour des concentrations supérieures à 5 mM/l.

Il convient aussi de remarquer que, l'inhibition par le Na de l'absorption du K par des racines d'*Orge*, est plus intense que l'inhibition inverse, tandis que le contraire est vrai pour le *Maïs*.

Ces résultats confirment ceux obtenus dans des expériences préliminaires sur l'interaction Na-K dans les plantes halophiles et halophobes⁽¹⁾ : chez les premières (dans le cas présent il s'agirait de l'*Orge*), l'action du Na sur l'absorption du K était plus marquée que celle du K sur l'absorption du Na ; chez les deuxièmes (ici le *Maïs*) c'était l'inverse.

III - DISCUSSION

Les figures 49 à 53 présentent les courbes $M_a^+ = f\left(\frac{M_a^+}{[M_a^+]}\right)$ (M_a^+ = cation absorbé ; $[M_a^+]$ = concentration externe de M^+) pour diverses expériences décrites plus haut. De même que pour les témoins, la plupart des courbes correspondant aux sujets traités possèdent une forme hyperbolique, mais comparées à celles des témoins leur branche droite est considérablement diminuée.

Dans le chapitre précédent nous avons signalé que la forme hyperbolique des courbes témoins pouvait s'interpréter comme l'indice d'une absorption régie par plusieurs réactions dont les unes atteindraient leur vitesse maximale aux faibles concentrations, les autres à des concentrations plus élevées. Si l'on s'en tient à cette interprétation, il ressort des figures 49 à 53, que les premières réactions sont plus sensibles à l'ion interférant. Et en effet, nous allons le démontrer, les trois postulats suivants pourraient rendre compte de la plupart des résultats obtenus :

1/ l'absorption consiste en plusieurs réactions dont les unes atteignent leur vitesse maximale aux faibles concentrations, les autres aux concentrations élevées (l'absorption par les premières réactions sera par convention désignée par "absorption par la voie I", celle par les autres, "absorption par la voie II") ;

2/ seule l'absorption par la voie I est sensible à l'ion interférant ;

3/ l'inhibition est du type non compétitif.

Pour simplifier la démonstration nous allons supposer que R_i^- représente la somme des vecteurs qui régissent l'absorption par la voie I et que

(1) Cf. page 5.

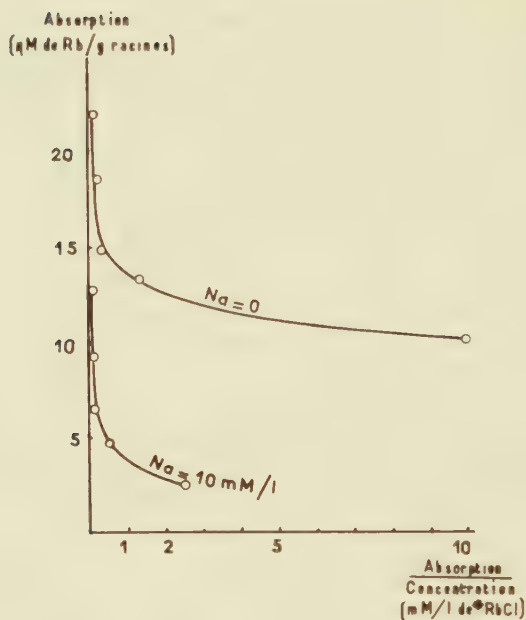


Figure 49 - Influence du Na sur l'absorption du Rb en fonction de la concentration en NaCl (racines d'Orge).

Résultats exprimés sous forme de : $\text{absorption} = f \left(\frac{\text{absorption}}{\text{concentration}} \right)$.

Expérience identique à celle du tableau XIII.

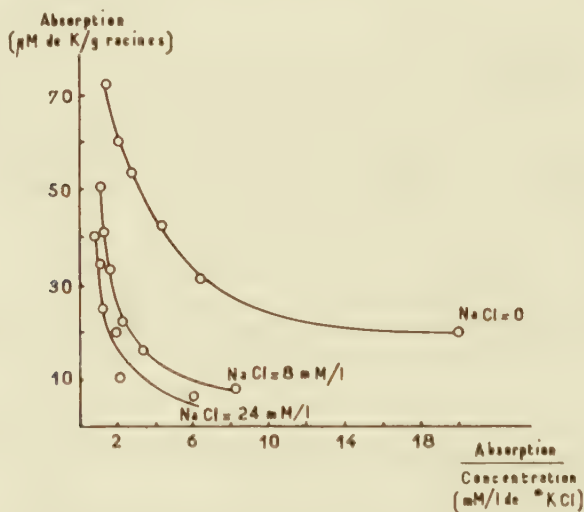


Figure 50 - Influence du Na sur l'absorption du K en fonction de la concentration en KCl (racines d'Orge).

Résultats présentés sous forme de : $\text{absorption} = f \left(\frac{\text{absorption}}{\text{concentration}} \right)$.

Expérience identique à l'expérience A du tableau XIV.

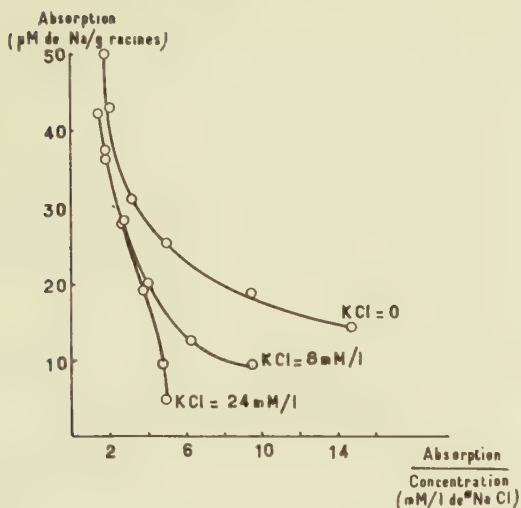


Figure 51 - Influence du K sur l'absorption du Na en fonction de la concentration en NaCl (racines d'Orge).

Résultats présentés sous forme de : $\text{absorption} = f\left(\frac{\text{absorption}}{\text{concentration}}\right)$.

Expérience identique à l'expérience B du tableau XIV.

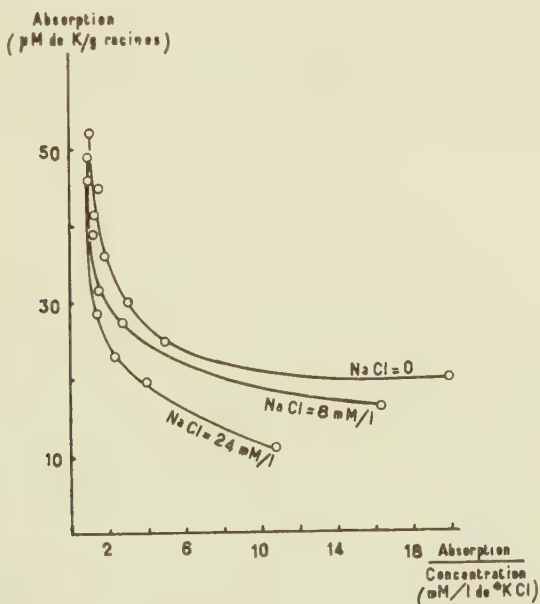


Figure 52 - Influence du Na sur l'absorption du K en fonction de la concentration en KCl (racines de Maïs).

Résultats présentés sous forme de : $\text{absorption} = f\left(\frac{\text{absorption}}{\text{concentration}}\right)$.

Expérience identique à l'expérience C du tableau XIV.

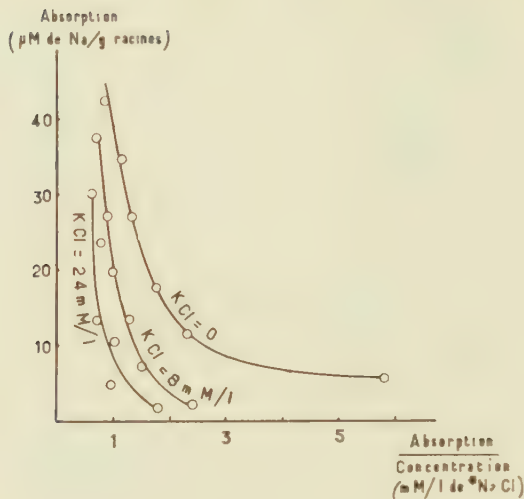


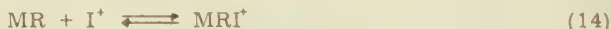
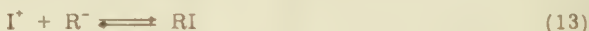
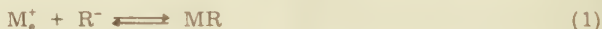
Figure 53 - Influence du K sur l'absorption du Na en fonction de la concentration en NaCl (racines de Maïs).

Résultats présentés sous forme de : $\text{absorption} = f\left(\frac{\text{absorption}}{\text{concentration}}\right)$.

Expérience identique à l'expérience D du tableau XIV.

les réactions correspondantes suivent la cinétique des réactions enzymatiques telle que nous l'avons exposée au début de ce chapitre.

Pour une inhibition non compétitive on aura les réactions suivantes :



Lorsqu'on augmente suffisamment la concentration en M_s^* , celle en I^* restant constante, tout le vecteur des sujets traités sera pratiquement sous la forme de MR et de MRI^* et la réaction (13) tendra à devenir nulle. La concentration de M_s^* à partir de laquelle ce phénomène se produit sera désignée par C. A cette concentration l'absorption par la voie I pour les témoins sera proportionnelle à $[R^-]$, celle pour les sujets traités à $[R^-] - [MRI^*]$. A des concentrations égales ou supérieures à C, l'absorption par les deux voies pour les sujets traités sera, par conséquent, réduite d'une quantité fixe ; cette quantité dépendra d'ailleurs de la concentration en I^* : plus cette concentration sera élevée, plus cette quantité sera grande. D'autre part, à cause de la réaction (13), la concentration C sera d'autant plus grande que la concentration en I^* sera élevée. C'est en effet ce que montrent les résultats ci-dessus : à partir d'une concentration en l'ion étudié au principal, d'autant plus grande que la concentration en l'ion interférant est élevée, l'absorption par les sujets traités est diminuée d'une quantité fixe. De plus, notre hypothèse implique une intensification de l'inhibition, pour une concentration donnée en M_s^* , lorsque la concentration en I^* augmente ; pour des concentrations suf-

faisamment grandes en I^+ les réactions (1) et (14) seront presque nulles et l'inhibition par la voie I sera presque totale. Il s'ensuivra que :

- 1/ l'inhibition augmentera avec la concentration en I^+ ;
- 2/ l'inhibition relative diminuera en fonction de cette concentration ;
- 3/ pour des concentrations suffisamment élevées en cet ion, la courbe d'inhibition de l'absorption par les deux voies (en fonction de la concentration de I^+) tendra vers une asymptote.

Ces trois derniers points sont également confirmés par nos résultats (figure 42 et tableaux XII et XIV).

Les postulats émis plus haut rendent également compte du fait que, dans certains cas, la distance entre les courbes d'absorption des témoins en fonction de la concentration de l'ion étudié au principal et celles des sujets traités atteint son maximum pour des concentrations égales ou supérieures à C (figures 44, 45, et 48, tableaux XIII et XIV, exp. A et D). En effet, nous le démontrerons (cf. annexe à la fin de ce chapitre), dans des réactions non compétitivement inhibées, la différence entre la vitesse de la réaction témoin et celle de la réaction inhibée tout en tendant vers une valeur fixe doit être maximale pour des concentrations infinies de substrat, pratiquement, il suffit que ces concentrations soient suffisamment grandes.

Cette hypothèse n'explique pas cependant tous les résultats, notamment ceux dans lesquels la distance entre les courbes atteint son maximum à des concentrations inférieures à C (figures 46 et 47, tableau XIV, exp. B et C). Pour interpréter ce fait il est nécessaire d'émettre des postulats supplémentaires, par exemple supposer une inhibition non compétitive pour certaines réactions régies par la voie I et une inhibition compétitive pour d'autres, ou encore, postuler que l'inhibition compétitive ne suit pas rigoureusement la cinétique de Michaelis-Menten. Nous n'entrerons pas dans les détails, ne pensant pas que notre interprétation doive être prise à la lettre.

En ce qui concerne l'influence du Na sur les quantités de Rb ultérieurement exsorbées, les résultats montrent une diminution de ces quantités, inférieure à celle des absorptions résiduelles (tableau XIII).

Le Rb exsorbé, nous l'avons vu, provient de l'espace libre primaire ainsi que d'autres régions. Si l'exsorption reflète, comme nous l'avons supposé, l'absorption réversible, faut-il attribuer l'inhibition plus faible de l'absorption exsorbable au fait que l'absorption du Rb dans l'espace libre primaire, n'est pas influencée par l'ion interférant ? L'absorption (exsorbable) dans d'autres régions serait-elle, dans ce cas, inhibée par les mêmes mécanismes qui inhibent les absorptions résiduelles ? Cette hypothèse nous paraît toutefois peu probable : en effet l'inhibition de l'absorption exsorbable du Rb par le Na, reste nettement inférieure à celle de l'absorption résiduelle dès les plus faibles concentrations en Rb employées (0,1 mM/l, tableau XIII). Or, pour ces concentrations, la contribution des ions de l'espace libre primaire est très faible comparée aux masses totales exsorbées. Il faut donc admettre que les mécanismes d'inhibition par l'ion Na de l'absorption exsorbable et de l'absorption résiduelle du Rb sont, au moins partiellement, différents.

RESUME ET CONCLUSIONS

L'étude de l'action du Na sur l'absorption du Rb a été effectuée sur des racines d'Orge, celle de l'interaction Na-K sur des racines d'Orge et de Maïs.

Le Na inhibe l'absorption du Rb et du K, le K celle du Na.

L'inhibition croît avec la concentration en l'ion interférant mais l'inhibition relative (c'est-à-dire rapportée à cette concentration) diminue.

A partir d'une certaine concentration en l'ion étudié au principal les courbes d'absorption en fonction de la concentration en ce dernier, en l'absence et en présence d'une concentration donnée en l'ion interférant, deviennent sensiblement parallèles.

Ces résultats ont été interprétés comme indicatifs d'une absorption consistant en plusieurs réactions dont la sensibilité à l'ion interférant n'est pas la même.

L'inhibition serait du type non compétitif plus ou moins complexe.

ANNEXE

Il nous faut démontrer que pour une réaction non compétitivement inhibée la différence entre la vitesse de la réaction témoin et celle de la réaction inhibée, atteint son maximum à des concentrations infinies du substrat. Nous désignerons respectivement par v et v_i la vitesse de la réaction témoin et celle de la réaction inhibée, et par V et V_i les vitesses de ces réactions à des concentrations infinies de substrat. Il nous faut démontrer que :

$$V - V_i > v - v_i \quad (1)$$

D'après l'équation (8) (chapitre VII)

$$v = \frac{V [M_s^*]}{[M_s^*] + K_u} \quad (2)$$

et d'après l'équation (17) du présent chapitre

$$v_i = \frac{V [M_s^*] K_I}{K_I K_u + [I^+] K_u + [M_s^*] K_I + [I^+] [M_s^*]} \quad (3)$$

Divisons le numérateur et le dénominateur de l'équation (3) par $[M_s^*]$, nous obtenons :

$$v_i = \frac{V K_I}{\frac{K_I K_u}{[M_s^*]} + \frac{[I^+] K_u}{[M_s^*]} + K_I + [I^*]} \quad (4)$$

Lorsque $[M_s^*]$ est très grand les deux premiers termes du dénominateur de l'équation (4) peuvent être négligés, et étant donné qu'à ces concentrations de $[M_s^*]$, v_i tend vers V_i , on peut écrire :

$$V_i = \frac{V K_I}{K_I + [I^*]}$$

Par conséquent nous avons à démontrer que

$$V - \frac{V K_I}{K_I + [I^*]} > \frac{V [M_s^*]}{[M_s^*] + K_u} - \frac{V [M_s^*] K_I}{K_I K_u + [I^+] K_u + [M_s^*] K_I + [I^+] [M_s^*]} \quad (5)$$

En éliminant V des deux termes de l'inégalité (5), et en permutant les termes de chaque côté nous obtenons

$$\frac{[I^*]}{K_I + [I^*]} > \frac{[I^*]}{\frac{K_I K_u}{[M_s^*]} + \frac{[I^+] K_u}{[M_s^*]} + K_I + [I^*]} \quad (6)$$

Le dénominateur du terme gauche de l'inégalité (6) est inférieur à celui du terme droite ; le numérateur étant le même des deux côtés, l'inégalité (6) et par elle l'inégalité (1) est prouvée.

CHAPITRE IX

EXSORPTION ET ABSORPTION EN PRÉSENCE D'INHIBITEURS

Dans les expériences suivantes j'ai étudié l'influence de quelques inhibiteurs du métabolisme oxydatif, sur divers aspects de l'exsorption (après absorption préalable) et de l'absorption du ^{86}Rb par des racines excisées d'Orge. Les inhibiteurs les plus souvent employés sont l'azoture de sodium (NaN_3) et le 2,4-dinitrophénol (DNP) ; dans quelques expériences, j'ai utilisé également le cyanure de potassium (KCN) et le diéthylthiocarbamate (D.D.C.).

pH des solutions contenant les inhibiteurs - L'action de plusieurs inhibiteurs dépend du pH ; souvent et c'est le cas pour l'azoture et le DNP (Stenlid 1948, 1949), elle est faible à des pH voisins de la neutralité, mais augmente avec l'acidité de la solution.

Dans les expériences décrites ci-dessous, le pH a été ajusté avec HCl ou NaOH à 4,75, pH habituel des autres expériences d'absorption.

Toutefois, le KCN est employé à des pH plus élevés (pH 6,5) et cela pour éviter en milieu acide la perte de l'acide cyanhydrique, très volatile. Pour cette même raison ces solutions ont été préparées juste avant leur emploi.

I - INFLUENCE DES INHIBITEURS SUR L'EXSORPTION DU Rb PRÉALABLEMENT ABSORBÉ

Au cours de mes recherches sur l'action des inhibiteurs, j'ai constaté que non seulement ils inhibent l'absorption mais aussi qu'ils stimulent l'exsorption du Rb précédemment absorbé. Pour mieux étudier ce dernier phénomène, j'ai effectué quelques expériences dans lesquelles des racines ayant absorbé du Rb sont mises à exsorber dans des solutions d'inhibiteurs (KCN, azoture, DNP). L'exsorption est suivie en fonction de la température, de la concentration des toxiques et de la durée de l'exsorption. Les résultats de trois expériences démonstratives figurent dans le tableau XV.

1 - Influence du KCN

Les faits suivants se dégagent des résultats obtenus avec ce toxique (exp. I) :

1/ les valeurs du Rb, trouvé dans le milieu d'exsorption à 1°-2°, sont sensiblement du même ordre pour les témoins et pour les sujets traités et cela quelle que soit la durée de l'exsorption ;

2/ elles sont également du même ordre pour les sujets traités à 25° ;

Tableau XV

Influence du KCN, du NaN_3 et du DNP sur l'extorsion du ^{86}Rb en fonction de différents facteurs
 Résultats : μM de Rb/g racines.

Exp.	Essai	Conditions d'absorption			Conditions d'extorsion			Extorsion		
		Conc. en RbCl (mM/l)	Durée (mn)	Absorp- tion	Inhi- biteur	Conc. (mM/l)	Temp. C°	30 mn	60 mn	120 mn
I	1	10	120	33,08	KCN	0	1°-2°	4,28	4,71	5,49
	2	"	"	32,77	"	0	25°	2,76	1,85	1,58
	3	"	"	32,89	"	1	1°-2°	4,26	4,45	5,63
	4	"	"	32,18	"	1	25°	3,84	4,75	5,51
II	1	10	120	23,61	NaN_3	0	1°-2°	3,88	4,32	4,79
	2	"	"	27,92	"	0	25°	2,69	1,85	1,43
	3	"	"	28,58	"	0,1	1°-2°	4,06	4,55	5,28
	4	"	"	28,02	"	0,01	25°	3,70	4,49	4,84
	5	"	"	29,35	"	0,1	25°	4,25	5,01	6,01
	6	"	"	26,17	"	1	25°	4,42	5,46	8,33
III	1	1	180	17,66	DNP	0	1°-2°	1,61	1,80	2,42
	2	"	"	17,10	"	0	25°	0,92	0,68	0,44
	3	"	"	17,28	"	0,01	1°-2°	1,57	1,90	2,45
	4	"	"	17,87	"	0,1	1°-2°	1,89	2,57	3,50
	5	"	"	17,58	"	0,01	25°	1,50	2,09	2,88
	6	"	"	16,94	"	0,1	25°	2,42	3,51	7,06
	7	"	"	17,03	"	1	25°	5,23	12,70	16,17

3/ elles sont par contre nettement inférieures pour les témoins à 25° chez lesquels il y a une réabsorption en fonction du temps.

L'interprétation de ces faits peut être tentée de la manière suivante :

a) A basse température, l'inhibiteur n'a aucun effet ni sur l'exsorption ni sur la réabsorption, à moins qu'il ne faille admettre une action inverse sur les deux phénomènes. Cette hypothèse est toutefois peu vraisemblable étant donné qu'à basse température l'absorption est très faible.

b) A 25°, il y a chez les témoins, nous l'avons déjà constaté dans des expériences antérieures, une réabsorption en fonction du temps.

c) Il s'ensuit immédiatement que si dans l'essai 4 (+KCN, 25°) on observe le même comportement que dans les essais 1 et 3 (observation 2), c'est que :

- ou bien la cyanure à la concentration employée doit avoir bloqué la réabsorption sans agir sur l'exsorption ;

- ou bien, à 25°, il y a une stimulation de l'exsorption masquée par une réabsorption et par conséquent la ressemblance des résultats obtenus à 1°-2° et à 25° n'est qu'apparente.

Une éventuelle réabsorption, donc une stimulation de l'exsorption, serait de toute manière faible, car des essais que nous présenterons plus loin montrent, en effet, que le KCN inhibe fortement l'absorption.

Ainsi il résulte de ces diverses conclusions, qui se recoupent très bien, que le KCN, à la concentration de 1 mM/l, influence peu l'exsorption, que ce soit à 25° ou à basse température et que les effets observés à 25°, par rapport au témoin, sont principalement dus à son action sur la réabsorption qu'il inhibe.

Il en résulte aussi que, finalement, pour l'étude de l'exsorption, les témoins à 25° sont peu utilisables tels quels, puisque la réabsorption interfère avec l'exsorption, et qu'il vaut mieux utiliser des témoins à 1°-2°, température à laquelle seule cette dernière se manifeste. Ce sont donc des témoins à 1°-2° que nous prendrons comme référence dans les expériences qui vont suivre.

2 - Influence de l'azoture

Les résultats de cette expérience figurent au tableau XV (exp. II). On constate que :

1/ les valeurs obtenues pour l'exsorption en présence d'azoture, à 1°-2° ou à 25°, sont supérieures à celles des témoins (comme convenu ceux-ci sont pris à 1°-2°). Dans un essai (essai 4, 0,01 mM/l d'azoture, 1°-2°) elles sont cependant du même ordre de grandeur ;

2/ elles augmentent avec la concentration du toxique ;

3/ elles augmentent avec la température d'exsorption (essais 3 et 5).

Pour connaître comment l'effet de l'azoture varie avec la durée de l'exsorption j'ai tracé dans la figure 54 les courbes d'exsorption en fonction de ce facteur. Les courbes des sujets traités présentent, comme celle des témoins, deux phases, l'une rapide, l'autre plus lente, mais en général elles s'écartent de la courbe témoin pour des exsorptions longues. Pour des con-

centrations élevées d'azoture (1 mM/l) et à 25°, l'effet du toxique augmente avec le temps. Ces observations se prêtent à l'interprétation suivante :

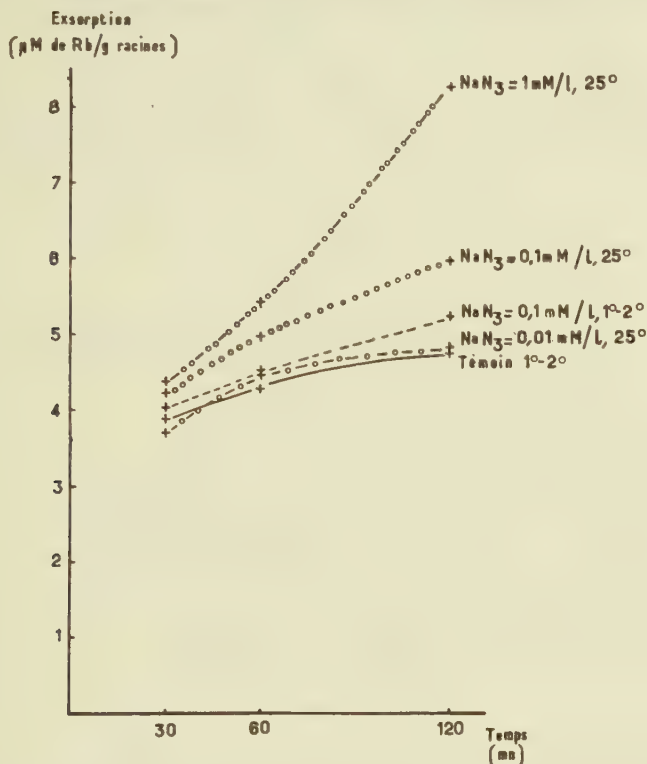


Figure 54 - Influence de l'azoture sur l'exsorption en fonction du temps. Expérience identique à l'expérience II du tableau XV.

a) A basse température ou pour des concentrations élevées d'azoture ($\geq 0,1$ mM/l), nous le verrons, l'absorption du Rb est fortement inhibée. Dans ces conditions, l'exsorption brute peut être confondue avec l'exsorption nette.

b) Il découle de (a) et de nos observations sur l'exsorption en fonction du temps que la stimulation de l'exsorption par l'azoture porte surtout sur la deuxième phase d'exsorption.

c) Cette stimulation augmente avec la concentration d'azoture, la température et, pour des concentrations élevées de toxique (1 mM/l), avec la durée d'exsorption. Il se peut que cet effet de la durée se serait manifesté à des concentrations plus faibles si l'expérience avait duré plus longtemps.

3 - Influence du dinitrophénol

Les résultats de cette expérience sont consignés dans le tableau XV (exp. III). On constate qu'en général les valeurs obtenues pour l'exsorption des sujets traités sont supérieures à celles des témoins. Elles croissent avec la concentration du toxique et la température d'exsorption.

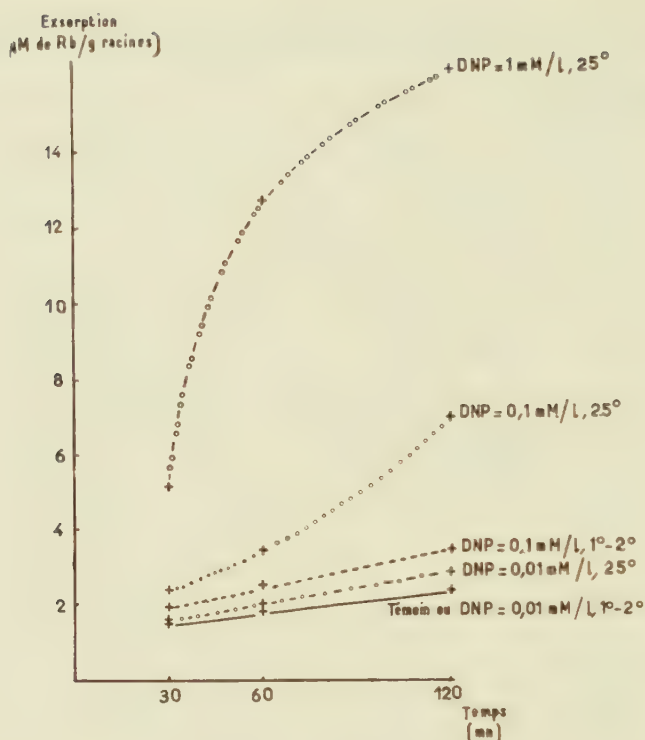


Figure 55 - Influence du DNP sur l'exsorption en fonction du temps.
Expérience identique à l'expérience III du tableau XV.

En ce qui concerne la marche de l'exsorption en fonction du temps (figure 55), on observe qu'ici aussi la plupart des courbes s'écartent de celle des témoins quand l'exsorption se prolonge. En présence de 0,1 mM DNP la vitesse de sortie du Rb augmente en fonction du temps. Une accélération analogue se produit dans l'essai correspondant à 1 mM/l d'inhibiteur ; elle est plus rapide et probablement commence plus tôt, de sorte qu'après 60 mn plus des deux tiers du Rb des racines se trouvent dans le milieu d'exsorption. La diminution de la vitesse d'exsorption après 60 mn est sans doute due à l'épuisement des racines en Rb.

Les résultats, on le voit, ressemblent à ceux obtenus avec l'azoture. L'interprétation étant essentiellement la même, on peut conclure que le DNP à partir d'une certaine concentration (dans le cas présent de l'ordre de 0,1 mM/l pour l'exsorption à 1°-2° et de 0,01 mM/l pour l'exsorption à 25°), stimule l'exsorption pendant la deuxième phase. Son effet augmente avec sa concentration, la température d'exsorption et dans les concentrations élevées de toxique (à 25°), avec la durée d'exsorption. Il se peut que cette influence de la durée se serait manifestée à des concentrations plus faibles si l'expérience avait duré plus longtemps.

II - INFLUENCE DES INHIBITEURS SUR L'ABSORPTION

1 - Influence du KCN et du diéthylthiocarbamate

Ces deux inhibiteurs ont été relativement peu employés dans mes études d'absorption. Dans le tableau XVI apparaissent les résultats de l'absorption brute de quelques essais effectués en présence de 1 mM/l de ces toxiques. Les concentrations en $^{86}\text{RbCl}$ sont respectivement 0,1, 1 et 10 mM/l. On constate les trois points suivants :

- le KCN et le D.D.C. inhibent l'absorption ;
- les deux toxiques produisent à peu près le même degré d'inhibition ;
- le pourcentage d'inhibition est un peu plus élevé pour les essais effectués avec 0,1 mM/l de $^{86}\text{RbCl}$ dans le milieu extérieur.

Tableau XVI

Influence du KCN et du D.D.C. sur l'absorption à différentes concentrations en $^{86}\text{RbCl}$

Conditions d'absorption : inhibiteur = 1 mM/l ; durée = 120 mn. ("Technique A").

Conc. en $^{86}\text{RbCl}$ (mM/l)	Inhibiteur	Absorption brute (μM de ^{86}Rb /g racines)	% d'inhibition
0,1	0	14,13	
"	KCN	4,95	65
"	D.D.C.	4,52	68,1
1	0	15,26	
"	KCN	6,07	60,2
"	D.D.C.	6,03	60,5
10	0	31,57	
"	KCN	13,14	58,4
"	D.D.C.	12,18	61,3

2 - Influence de l'azoture

Dans cette série d'expériences j'ai étudié l'influence de l'azoture sur l'absorption du Rb en fonction de la durée d'absorption, de la concentration en RbCl et de celle en NaN_3 . Pour tenir compte d'un effet spécifique du Na, contenu dans l'azoture, sur les résultats, j'ai ajouté dans les témoins une quantité de NaCl correspondant à la concentration en cet élément des solutions traitées. Les résultats sont donnés aux tableaux XVII à XXI, et aux figures 56 à 58. L'azoture inhibe l'absorption brute (tableaux XVII et XIX, figure 57). L'inhibition possède les caractères suivants :

- elle croît avec la durée d'absorption (tableau XVIII) ;
- elle diminue légèrement avec la concentration en RbCl ;
- elle augmente avec la concentration en azoture.

Tableau XVII

Influence de l'azoture sur l'absorption en fonction du temps

Conditions d'absorption : $\text{RbCl} = 10 \text{ mM/l}$; azoture = $0,1 \text{ mM/l}$. Résultats : μM de Rb/g racines.

Durée de l'absorption (mn)	Inhibiteur	Milieu d'exsorption					
		eau			sol. de RbCl		
		Absorption			Absorption		
		brute	résiduelle	exsorbable	brute	résiduelle	exsorbable
3	0	4,60	2,48	2,12	4,67	1,85	2,82
"	+	3,48	1,41	2,27	3,59	0,99	2,60
7	0	6,68	4,13	2,55	6,59	2,61	3,98
"	+	3,88	1,86	2,02	4,05	1,03	3,02
15	0	10,96	7,56	3,40	11,08	6,27	4,81
"	+	5,35	2,46	2,89	5,22	1,54	3,68
30	0	17,44	13,54	3,90	17,51	11,49	6,02
"	+	7,03	3,19	3,84	7,15	2,71	4,44
60	0	28,72	24,40	4,32	28,66	22,58	6,08
"	+	8,90	4,88	4,02	8,94	4,56	4,38

Tableau XVIII

Influence de l'azoture sur l'absorption en fonction du temps.

Résultats exprimés en pourcentage d'inhibition par rapport au témoin.
Expérience identique à celle du tableau XVII

Durée de l'absorption (mn)	Milieu d'exsorption					
	eau			sol. de RbCl		
	Absorption			Absorption		
	brute	résiduelle	exsorbable	brute	résiduelle	exsorbable
3	24,4	43,2	7	23,2	39,6	7,8
7	42	55	21	38,6	61,1	24,2
15	51,5	67,5	15	52,9	75,4	23,4
30	59,7	76,5	1,1	59,2	76,4	26,2
60	69	80	6,8	68,6	79,8	28

Voyons maintenant comment cette inhibition est répartie entre les absorptions résiduelles et les absorptions exsorbables (dans l'eau et dans une solution de RbCl) et quels sont les caractères de l'inhibition pour chacune de ces absorptions.

Tableau XIX

Influence de l'azoture sur l'absorption en fonction de la concentration en $^{86}\text{RbCl}$

Conditions d'absorption : azoture = 0,1 mM/l ; Durée = 60 mn. Résultats : μM de Rb/g racines.

Conc. en $^{86}\text{RbCl}$ (mM/l)	Inhibiteur	Milieu d'exsorption					
		eau			sol. de RbCl		
		Absorption			Absorption		
		brute	résiduelle	exsorbable	brute	résiduelle	exsorbable
0,1	0	7,50	6,75	0,75	7,32	5,65	1,67
"	+	1,80	1,48	0,32	1,89	1,23	0,66
1	0	10,78	9,71	1,07	10,38	8,02	2,36
"	+	2,52	1,70	0,82	2,77	1,28	1,49
5	0	14,75	12,60	2,15	14,75	11,17	3,58
"	+	4,50	2,61	1,89	4,66	2,15	2,51
10	0	17,78	14,40	3,38	17,69	11,80	5,89
"	+	6,40	3,48	2,92	6,55	1,88	4,67

Tableau XX

Influence de l'azoture sur l'absorption en fonction de la concentration en $^{86}\text{RbCl}$

Résultats exprimés en pourcentage d'inhibition par rapport au témoin.
Expérience identique à celle du tableau XIX

Conc. en $^{86}\text{RbCl}$ (mM/l)	Milieu d'exsorption					
	eau			sol. de RbCl		
	Absorption			Absorption		
	brute	résiduelle	exsorbable	brute	résiduelle	exsorbable
0,1	76	78,2	57,3	74	78	60
1	76,7	82,5	23,3	73,3	84,1	36,9
5	69,5	79,3	12	68,4	80,7	30
10	64	75	13,5	63	84,1	29,2

1/ Les absorptions résiduelles et exsorbables sont en général inhibées par l'azoture (tableaux XVIII, XX et XXI, figures 56, 57 et 58) ; l'inhibition des absorptions résiduelles est supérieure à celle des absorptions exsorbables, et l'inhibition de l'absorption exsorbable dans une solution de RbCl, supérieure à celle de l'absorption exsorbable dans l'eau.

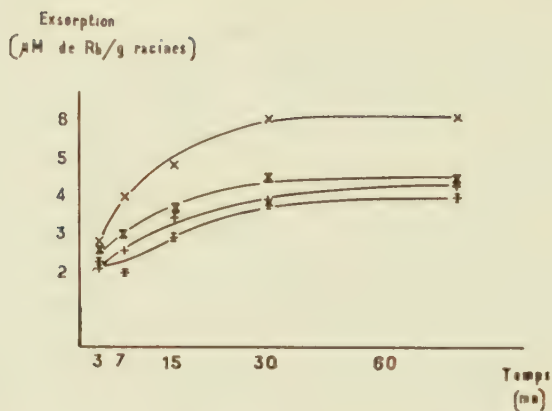


Figure 56 - Influence de l'azoture sur les absorptions exsorbables, en fonction du temps.

Expérience identique à celle du tableau XVII.

Notations : + = témoins (exs eau)
 x = " (exs RbCl)
 + = sujet traités (exs eau)
 x = " (exs RbCl)

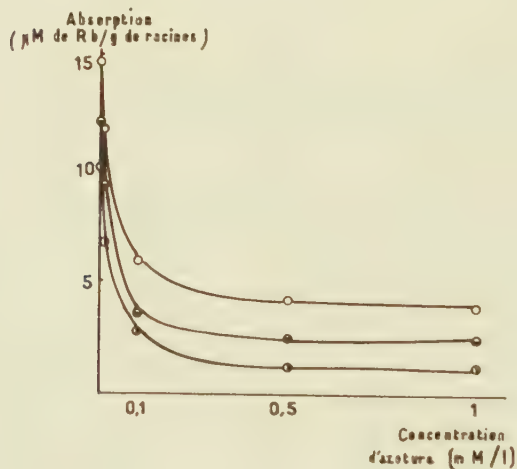


Figure 57 - Absorption du Rb en fonction de la concentration en azoture.

Conditions d'absorption : $\text{RbCl} = 5 \text{ mM/l}$; durée = 60 mn.

Notations : O = absorption brute
 ● = " résiduelle (exs eau)
 ● = " " (exs RbCl)

Tableau XXI

Influence de la concentration en azoture sur l'absorption

Résultats exprimés en pourcentage d'inhibition par rapport au témoin.
 Expérience identique à celle des figures 57 et 58

Conc. en azoture (mM/l)	Milieu d'exsorption			
	eau		sol. de RbCl	
	Absorption		Absorption	
	résiduelle	exsorbable	résiduelle	exsorbable
0,01	23,5	7,2	33,3	-6
0,1	70,1	21,7	73,3	33,7
0,5	75,2	31,6	86,1	39,4
1	79,9	36,4	87,9	46

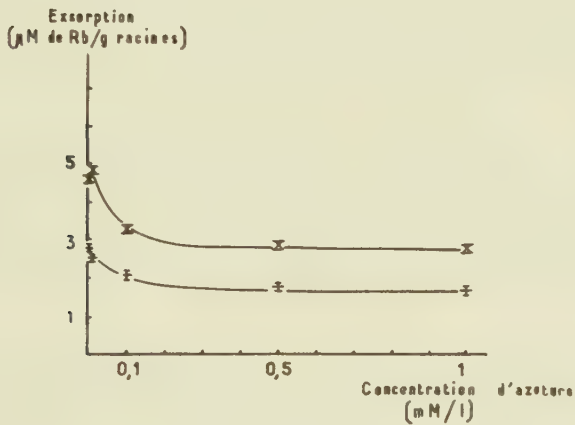


Figure 58 - Absorption exsorbable du Rb en fonction de la concentration en azoture.
 Expérience identique à celle de la figure 57.

Notations : $\pm$ = exsorption dans l'eau

$\times$ = " dans une solution de RbCl

2/ Les pourcentages d'inhibition pour toutes les fractions du Rb absorbé croissent avec la durée d'absorption (tableau XVIII). Dans le cas des absorptions résiduelles, l'inhibition continue à augmenter tout au long de l'expérience, dans celui des absorptions exsorbables l'augmentation de l'inhibition se manifeste surtout entre la 3ème et la 7ème minute ; par la suite les pourcentages d'inhibition varient peu entre eux. Les pourcentages d'inhibition, exceptionnellement faibles, obtenus pour l'absorption exsorbable dans l'eau après 30 et 60 mn d'absorption, nous semblent dûs aux erreurs d'expérience.

3/ L'inhibition des absorptions résiduelles ne dépend pas, ou dépend très peu de la concentration extérieure en RbCl, celle des absorptions exsorbables varie en sens inverse de cette dernière (tableau XX).

4/ L'effet de l'azoture augmente avec la concentration de ce toxique ; il croît très rapidement pour l'intervalle de concentrations 0,01 à 0,1 mM/l (pour cet intervalle les pentes des différentes courbes des figures 57 et 58 sont relativement fortes) ; aux concentrations plus élevées, l'augmentation est plus lente.

°
° °

Les trois points suivants doivent être pris en considération dans l'analyse des résultats obtenus avec l'azoture et éventuellement avec d'autres inhibiteurs.

a) L'azoture, d'une part, inhibe l'absorption et d'autre part, stimule l'exsorption. Les valeurs obtenues pour l'absorption brute en présence de ce toxique sont donc les résultantes de ces deux phénomènes. Pour s'approcher des valeurs réelles de l'inhibition il est nécessaire d'opérer dans des conditions où le deuxième phénomène est faible ; cela peut-être réalisé en employant des petites doses de toxique et en diminuant la durée d'expérience : en effet, nous l'avons vu, la stimulation de l'exsorption croît avec la concentration du toxique et avec la durée de l'expérience. La deuxième condition a été respectée dans les essais présentés plus haut, leur durée n'excédant pas 60 mn. Il est toutefois à craindre que les doses employées n'aient été, dans certains cas, trop élevées, et que, par conséquent, les pourcentages d'inhibition obtenus pour l'absorption soient supérieurs aux valeurs réelles.

b) Les racines sont mises à absorber dans un milieu contenant à la fois le toxique et l'ion marqué. Or, si le Rb atteint les régions où s'effectue l'absorption avant l'arrivée du toxique à ses loci d'action, une partie du Rb sera absorbée avant que l'inhibiteur ait atteint son maximum d'efficacité. Cela ne permettra pas l'évaluation de l'inhibition réelle.

c) Pour étudier l'inhibition du Rb exsorbable, les racines sont transférées d'un milieu contenant de l'azoture à un milieu dépourvu de ce corps ; il nous faut, par conséquent, tenir compte d'un éventuel effet rémanent du toxique susceptible d'influencer l'exsorption.

C'est en gardant ces trois considérations présentes à l'esprit que nous procéderons à l'analyse des résultats.

Influence de l'azoture sur les absorptions résiduelles

L'azoture, inhibiteur indiscutable de plusieurs processus métaboliques (nous y reviendrons), inhibe les absorptions résiduelles ; cela suggère un

lien étroit entre l'absorption et le métabolisme. L'action du toxique augmente avec sa concentration, mais les pourcentages d'inhibition varient peu avec la concentration en RbCl. En ce qui concerne l'augmentation de l'inhibition avec la durée de l'absorption il nous est impossible de savoir s'il s'agit d'une stimulation de l'exorption, qui croît avec le temps ou d'un effet de l'azoture sur l'absorption qui augmente de même. Dans le deuxième cas, l'effet du toxique serait dû soit à une arrivée tardive de l'azoture à ses loci d'action, soit à un déclenchement, dans la cellule, d'une série de réactions qui dégraderaient progressivement le mécanisme d'absorption.

Influence de l'azoture sur les absorptions exsorbables

Les résultats obtenus se prêtent à l'interprétation suivante :

a) La diminution des absorptions exsorbables par l'azoture suggère une dépendance de ces absorptions vis-à-vis du métabolisme.

b) L'azoture pendant les toutes premières minutes de l'absorption n'a aucun effet sur l'absorption exsorbable. A moins d'une lente accession du toxique à ses sites d'actions, ce résultat indiquerait que, pendant ce temps, une grande partie du Rb exsorbable est absorbée par des mécanismes passifs.

c) L'inhibition varie en sens inverse de la concentration extérieure en RbCl ; cela indiquerait que la fraction du Rb exsorbable, absorbée par des mécanismes actifs, est plus grande dans les faibles concentrations.

d) De même, les pourcentages d'inhibition plus élevés pour le Rb exsorbable dans une solution de RbCl, suggèrent que la fraction de $Rb_{(exs\ RbCl)}$ absorbée par des mécanismes actifs est supérieure à celle correspondant à $Rb_{(exs\ eau)}$.

Cette interprétation n'est évidemment valable qu'en absence d'un effet remanent de l'azoture pendant l'exorption.

Il convient de noter la similitude entre les résultats obtenus ici, relatifs à l'action de l'azoture sur les absorptions exsorbables, et ceux présentés dans un chapitre antérieur concernant l'effet des basses températures sur le même phénomène ; nous y avons d'ailleurs abouti à la même interprétation.

3 - Influence du dinitrophénol

Les résultats de trois expériences représentatives sont consignés aux figures 59, 60 et 61 et aux tableaux XXII à XXVI. Dans la première l'absorption du Rb en présence du toxique a été suivie en fonction du temps, dans la deuxième en fonction de la concentration en RbCl, dans la troisième en fonction de la concentration en DNP.

On constate que :

1/ les absorptions résiduelles et exsorbables sont diminuées par le DNP (tableaux XXII à XXVI ; figure 59, 60 et 61) ; les absorptions résiduelles sont plus sensibles au toxique que les absorptions exsorbables (tableaux XXIII, XXV et XXVI) et les absorptions exsorbables dans une solution de RbCl plus sensibles que celles exsorbables dans l'eau (tableaux XXIII et XXV ; figure 60) ;

2/ l'inhibition de toutes les fractions du Rb absorbé croît avec la du-

Tableau XXII

Influence du DNP sur l'absorption en fonction du temps

Conditions d'absorption : $^{\ast}\text{RbCl}$ = 10 mM/l ; DNP = 0,05 mM/l.Résultats : μM de Rb/g racines.

Durée de l'absorption (mn)	Inhibiteur	Milieu d'exsorption					
		eau			sol. de RbCl		
		Absorption			Absorption		
		brute	résiduelle	exsorbable	brute	résiduelle	exsorbable
4	0	4,62	1,90	2,72	5,12	1,10	4,02
"	+	3,17	0,51	2,66	3,70	0,17	3,53
13,5	0	8,97	5,25	3,72	9,37	3,32	6,05
"	+	3,89	0,80	3,09	4,39	0,46	3,93
38	0	16,95	13,20	3,75	16,94	10,69	6,25
"	+	4,63	1,38	3,25	4,87	0,87	4,00
60	0	20,75	16,93	3,82	20,81	14,51	6,30
"	+	5,12	1,90	3,22	5,13	1,14	3,99

Tableau XXIII

Influence du DNP sur l'absorption en fonction du temps

Résultats exprimés en pourcentage d'inhibition par rapport au témoin.
Expérience identique à celle du tableau XXII.

Durée de l'absorption (mn)	Milieu d'exsorption					
	eau			sol. de RbCl		
	Absorption			Absorption		
	brute	résiduelle	exsorbable	brute	résiduelle	exsorbable
4	31,4	73,2	2,2	27,8	84,5	12,2
13,5	56,6	84,8	16,8	53,1	86,2	35
38	72,7	89,5	13,3	69,3	91,9	36
60	75,4	88,3	15,7	75,4	92,1	36,6

rée (tableau XXIII). Cette augmentation se manifeste surtout entre la 4ème et la 13ème minute.

3/ l'inhibition varie en sens inverse de la concentration en RbCl (tableau XXV) ;

Tableau XXIV

Influence du DNP sur l'absorption en fonction de la concentration en $^{86}\text{RbCl}$

Conditions d'absorption : DNP = 0,01 mM/l ; durée = 60 mn. Résultats : μM de Rb/racines.

Conc. en $^{86}\text{RbCl}$ (mM/l)	Inhibiteur	Milieu d'exsorption					
		eau			sol. de RbCl		
		Absorption			Absorption		
		brute	résiduelle	exsorbable	brute	résiduelle	exsorbable
0,1	0	8,60	7,55	1,05	8,33	6,47	1,86
"	+	2,28	1,70	0,58	2,38	1,47	0,91
1	0	10,88	9,03	1,85	11,12	7,99	3,13
"	+	4,09	2,64	1,45	3,85	1,70	2,15
5	0	13,13	10,59	2,54	13,42	9,06	4,36
"	+	5,62	3,72	1,90	5,78	2,84	2,94
10	0	16,50	12,59	3,91	16,63	10,44	6,19
"	+	9,07	5,62	3,45	8,52	4,18	4,34

Tableau XXV

Influence du DNP sur l'absorption en fonction de la concentration en $^{86}\text{RbCl}$

Résultats exprimés en pourcentage d'inhibiton par rapport au témoin.
Expérience identique à celle du tableau XXIV.

Conc. en $^{86}\text{RbCl}$ (mM/l)	Milieu d'exsorption					
	eau			sol. de RbCl		
	Absorption			Absorption		
	brute	résiduelle	exsorbable	brute	résiduelle	exsorbable
0,1	73,5	77,5	44,8	71,4	77,3	51,1
1	62,4	70,8	21,6	65,4	78,8	31,4
5	57,2	64,9	25,2	46,9	68,7	32,6
10	45	54,8	11,6	48,8	60	29,9

4/ elle augmente avec celle du toxique (figure 60 et 61 ; tableau XXVI).

Les résultats relatifs aux absorptions exsorbables, ressemblent à ceux obtenus plus haut avec l'azoture et donnent lieu à la même interprétation.

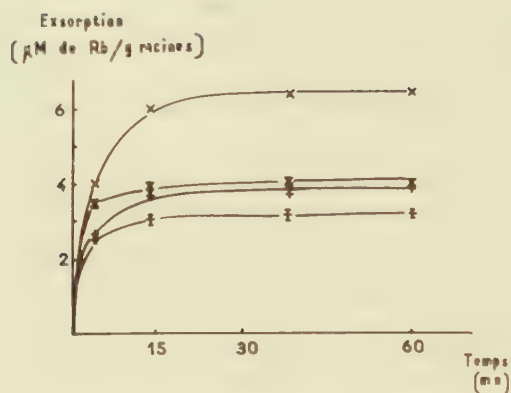


Figure 59 - Influence du DNP sur les absorptions exsorbables, en fonction du temps. Expérience identique à celle du tableau XXII. Mêmes notations que dans la figure 56.

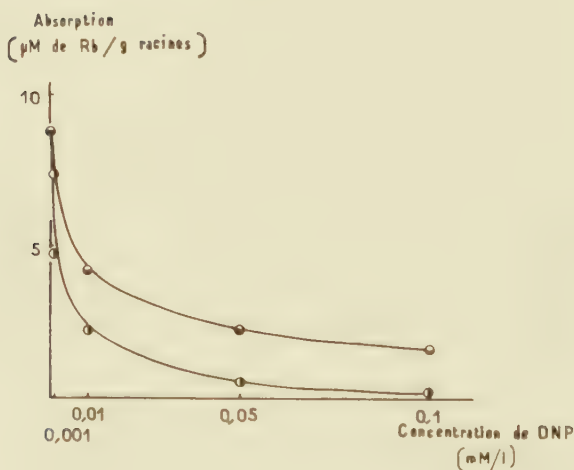


Figure 60 - Absorption du Rb en fonction de la concentration en DNP. Conditions d'absorption : $^{86}\text{RbCl} = 1 \text{ mM/l}$; durée = 60 mn. Mêmes notations que celles de la figure 57.

Tableau XXVI

Influence de la concentration en DNP sur l'absorption

Résultats exprimés en pourcentage d'inhibition par rapport au témoin. Expérience identique à celle des figures 60 et 61.

Conc. en DNP (mM/l)	Milieu d'exsorption : sol. de RbCl	
	Absorption	
	résiduelle	exsorbable
0,001	45,6	19,1
0,01	74,3	40,5
0,05	94,1	51,8
0,1	98	53,7

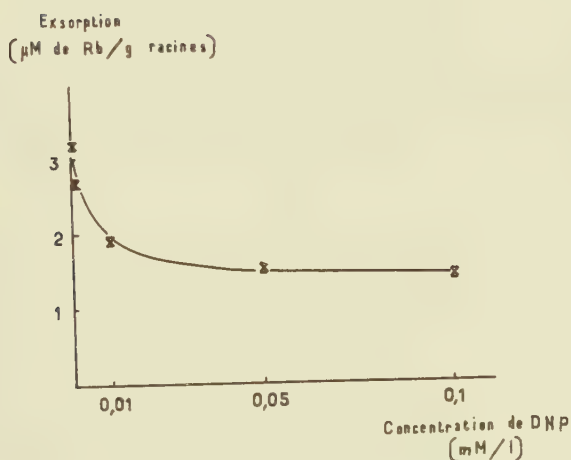


Figure 61 - Absorption exsorbable du Rb en fonction de la concentration en DNP.
Milieu d'exsorption : solution de RbCl.
Expérience identique à celle de la figure 60.

III - DISCUSSION

Dans la présente discussion nous nous limiterons à une brève synthèse des résultats obtenus ; le mode d'action des inhibiteurs sur le métabolisme oxydatif et les relations entre celui-ci et l'absorption seront discutés dans la troisième partie de ce mémoire.

L'azoture et le DNP stimulent l'exsorption et en premier lieu celle qui s'effectue pendant la deuxième phase d'exsorption en fonction du temps. Cette stimulation est sensible à la température, indice d'une action par des voies chimiques. D'autre part, ces mêmes toxiques inhibent l'absorption. On pourrait se demander si leur action sur l'exsorption est spécifique, donc indépendante de leur effet sur l'absorption, ou s'ils agissent sur un facteur commun aboutissant à l'inhibition de l'absorption d'une part, à la stimulation de l'exsorption de l'autre. Nous ne pouvons pas répondre à cette question, mais notons cependant qu'en général ces toxiques freinent l'absorption pour des concentrations auxquelles la stimulation de l'exsorption est à peine perceptible.

Le KCN inhibe l'absorption, sans influencer ou, seulement peu, sur l'exsorption. Y a-t-il une différence fondamentale entre l'effet du KCN et celui de l'azoture ou du DNP sur l'exsorption. La concentration de KCN employée (1 mM/l) bien que forte en valeur absolue, était peut-être faible en valeur relative : en effet 1 mM/l de KCN inhibe l'absorption brute de 60 % ; des concentrations d'azoture causant une inhibition du même ordre de grandeur ne stimulaient pas toujours l'exsorption. Des expériences supplémentaires sont donc nécessaires pour élucider ce point.

Il convient ici d'attirer l'attention sur les variations de sensibilité à l'azoture et au DNP, souvent présentées par les racines d'une expérience à l'autre. Des effets obtenus dans une expérience avec une concentration donnée de toxique ne l'étaient dans une autre qu'avec des concentrations cinq à dix fois plus élevées ou plus faibles. Ces variations étaient plus accusées que celles observées, au cours de notre travail, dans l'étude d'autres facteurs.

L'inhibition des absorptions résiduelles par les divers toxiques ne font que confirmer des faits solidement établis à savoir que l'absorption est liée au métabolisme, mais n'apporte aucun élément nouveau sur la nature de ces relations. Signalons toutefois que certains résultats suggèrent une action différente de l'azoture et du DNP sur les absorptions résiduelles : les pourcentages d'inhibition obtenus avec l'azoture varient peu avec la concentration en RbCl, tandis que ceux obtenus avec le DNP, varient en sens inverse de ce facteur. Le mode d'action de ces deux toxiques sur le métabolisme et le lien entre celui-ci et l'absorption sont encore insuffisamment connus (nous y reviendrons) pour avancer une hypothèse, pas trop spéculative, sur ce phénomène.

Quant à l'inhibition constatée des absorptions exsorbables, elle est une preuve supplémentaire de la dépendance (partielle) de ces absorptions vis-à-vis du métabolisme.

RESUME ET CONCLUSIONS

L'influence de divers inhibiteurs du métabolisme respiratoire sur l'absorption et l'exsorption du Rb par des racines d'Orge a été étudié. Le KCN (1 mM/l) a peu d'effet sur l'exsorption, l'azoture (NaN_3) et le DNP (2,4 dinitrophénol) à des concentrations variant de 0,01 à 1 mM/l, la stimulent. Cette stimulation croît avec la concentration des toxiques, avec la température et avec la durée d'exsorption.

Le KCN, le diethyldithiocarbamate, l'azoture et le DNP inhibent l'absorption brute. L'action des deux derniers inhibiteurs a été étudiée plus spécialement : ils diminuent les absorptions résiduelles et exsorbables ; l'inhibition des premières est beaucoup plus marquée ; cette inhibition croît avec la durée d'absorption et la concentration des toxiques. Dans le cas du DNP l'inhibition varie en sens inverse de la concentration en RbCl dans le milieu d'absorption, dans le cas de l'azoture elle est peu influencée par ce facteur.

Les pourcentages d'inhibition des absorptions exsorbables sont plus élevés lorsque l'exsorption a lieu dans une solution de RbCl que lorsqu'elle s'effectue dans l'eau. Ils augmentent avec la durée de l'absorption (surtout pendant les premières minutes) et varient en sens inverse de la concentration en Rb du milieu d'absorption. Peu de conclusions générales ont pu pour l'instant être dégagées, en particulier il a été confirmé que l'absorption exsorbable est en partie métabolique.

TROISIÈME PARTIE

DISCUSSION GÉNÉRALE

CHAPITRE X

LE DÉROULEMENT DE L'ABSORPTION DANS LE TEMPS

Comme il a été déjà signalé dans la première partie du présent travail, plusieurs chercheurs ont trouvé que le déroulement de l'absorption dans le temps s'effectue en deux phases, l'une est rapide et brève; l'autre, plus lente, se poursuit à vitesse constante pendant plusieurs heures (figure 62). L'absorption pendant la phase rapide consisterait en des phénomènes passifs et actifs, mais l'importance des premiers, beaucoup plus grande au début, s'atténue rapidement avec le temps et devient négligeable pendant la deuxième phase, où l'absorption est essentiellement active. D'autre part, on admet que l'absorption passive est réversible tandis que l'active est irréversible.

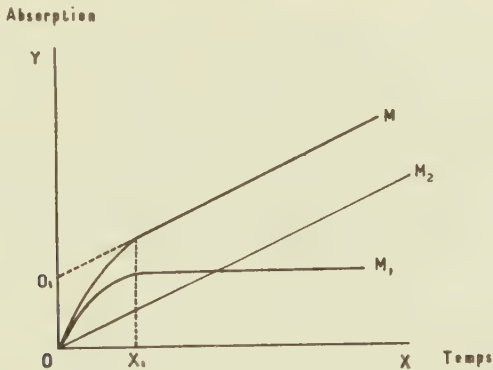


Figure 62 - Courbes d'absorption en fonction du temps.

Notations : OM = absorption totale

OM₁ = " réversible (passive)

OM₂ = " irréversible (active).

Cette conception de l'absorption en fonction du temps ne peut-être appliquée telle quelle à mes résultats. Les courbes d'absorption présentent dès la première heure trois parties : la première, curviligne, correspond à des durées très courtes (≤ 2 mn), la deuxième linéaire, dure entre 20 et 30 mn, la troisième traduit une diminution de la vitesse d'absorption avec le temps. En outre, les expériences d'exsorption suggèrent que l'absorption correspondant à la partie linéaire s'effectue par des processus à la fois réversibles et irréversibles et que les premiers dépendent en partie du métabolisme. Par conséquent, l'absorption correspondant à la partie linéaire de nos courbes expérimentales, ne peut être identifiée à celle qui, selon les conceptions courantes, se produirait pendant la deuxième phase, à vitesse constante. La dis-

inction souvent faite des mécanismes actifs et passifs d'après la forme des courbes ne pourrait donc pas être généralisée.

Pour mieux analyser la marche de l'absorption dans le temps, nous allons, dans la suite de cet exposé, distinguer, non pas l'absorption active et passive, mais l'absorption dans l'espace libre (e.l.) situé, par notre définition, hors des barrières cellulaires qui s'opposent à la diffusion des solutés externes, et l'absorption à l'intérieur de ces barrières (1). De plus l'absorption dans l'e.l. sera synonyme de l'absorption réversible, en général brève, mais pas nécessairement passive, tandis que l'absorption à l'intérieur de la barrière de diffusion correspondra à l'absorption irréversible. Ce classement des processus d'absorption est sujet à quelques réserves car, d'une part, les ions absorbés sur la barrière elle-même pourraient l'être irrévérissiblement, d'autre part, cette barrière n'étant pas rigoureusement hémiperméable, les ions de l'extérieur ou de l'intérieur peuvent dans une certaine mesure la traverser par diffusion. Mais remarquons que je n'attribue à ce terme de barrière de diffusion aucun sens absolu ; il s'agit surtout d'une terminologie commode pour la discussion qui suit.

Avant d'envisager l'absorption en fonction du temps de part et d'autre de la barrière de diffusion, il nous semble important de discuter la localisation de cette barrière, bien que ce point n'ait pas fait l'objet d'une étude dans la partie expérimentale.

I - LOCALISATION DE LA PRINCIPALE BARRIÈRE DE DIFFUSION

En général on s'accorde à reconnaître que les parois cellulaires sont perméables aux solutés de l'extérieur, mais que le tonoplasme manifeste une perméabilité sélective. Les points de vue des chercheurs diffèrent cependant en ce qui concerne la pellicule ectoplasmique. Selon les uns cette membrane oppose très peu de résistance à la diffusion des ions et par conséquent le cytoplasme fait partie de l'e.l., selon d'autres cette membrane s'oppose à la libre diffusion des ions, et le cytoplasme, régions superficielles évidemment exceptées, se situe hors de cet espace.

L'hypothèse d'un cytoplasme librement accessible aux ions de l'extérieur n'est pas récente. La plupart des conceptions physico-chimiques de l'absorption l'admettaient, nous l'avons vu. Mais tombée un peu dans l'oubli, elle fut reprise tout d'abord par Arisz (1945) puis par l'école australienne (Briggs et Robertson 1948, Robertson 1951, Hope et Robertson 1953) et adop-

(1) Il convient de dire quelques mots sur l'éventualité d'une autre barrière de diffusion, particulière aux racines, l'endoderme. En effet, certains chercheurs considèrent que cette couche de cellules n'offre pas de résistance à l'entrée passive des ions de l'extérieur (Hylmö 1953, 1955, 1958, Epstein 1956 a et b, Kramer 1957) tandis que d'autres maintiennent que le transport d'ions à travers cette couche est un phénomène actif (Broyer et Hoagland 1943, Brouwer 1954, 1956, Van den Honert et coll. 1955, Russel et Shorrocks 1959) ; mais même pour ces derniers auteurs la perméabilité passive des parois des cellules endodermiques aux ions de l'extérieur, n'a pas encore été définitivement établie ; Arisz (1945), se référant à des travaux anciens de Rufz de Lavisson (1910) sur la plasmolyse des racines, pense que les cellules de l'endoderme communiquent avec celles du parenchyme par les plasmodesmes, mais que leurs parois sont imperméables. Nous n'allons pas cependant entrer dans cette controverse dont Russel et Barber ont rendu compte dans un article récemment publié (1960).

tée par plusieurs chercheurs (Hylmö 1953, Sutcliffe 1954 a, Epstein 1956 a, etc.).

Elle découle d'expériences diverses qui mettent en évidence la présence, dans les tissus, d'ions non diffusibles, en majorité chargés négativement, qui échangent rapidement les ions retenus à leur surface contre ceux de l'extérieur. (Briggs et Robertson 1948, Tendeloo et coll. 1946, Hope 1951, Hope et Stevens 1952, Sutcliffe 1954 a, Epstein 1955 etc.).

Deux faits principaux conduisent ces chercheurs à localiser les ions non diffusibles dans le cytoplasme :

- les constituants cytoplasmiques - et notamment les protéines - peuvent s'ioniser pour donner des anions non diffusibles.

- les quantités d'ions échangeables sont trop élevées pour pouvoir être localisées uniquement à la surface des cytoplasmes.

Ils en ont conclu que le système d'échange se situe en grande partie dans le cytoplasme qui serait par conséquent librement accessible aux ions de l'extérieur.

Des arguments différents conduisent Burström (1957) à une conclusion analogue. Ce chercheur considère que dans des cellules comme celles des racines, où le cytoplasme forme une couche très mince autour de la vacuole, toute distinction entre surface et intérieur du cytoplasme est "probablement pure dialectique".

Levitt (1957) critique ce point de vue, en soulignant d'une part les preuves accumulées sur les propriétés semiperméables de l'ectoplasme, d'autre part quelques conséquences absurdes de cette hypothèse, et enfin des causes d'erreur dans les calculs qui ont conduit à l'adopter.

D'autres données nous amènent à penser que la plus grande partie du cytoplasme, n'est pas en contact direct avec le milieu extérieur : Walker (1957) a montré qu'une grande partie de la résistance opposée par une cellule au passage d'un courant électrique se situe entre le cytoplasme et le milieu ambiant, indice d'une barrière de diffusion entre ces deux milieux. Les travaux d'Arisz présentés dans l'introduction tendraient à faire croire à une accumulation du Cl dans le cytoplasme, distincte de celle qui a lieu dans la vacuole. Une telle accumulation n'est possible qu'à l'intérieur d'une barrière de diffusion. Buvat et Lance (1957) ont obtenu au microscope électronique des images de sections de diverses cellules végétales, mettant en évidence une double membrane cytoplasmique avec des invaginations profondes dans le cytoplasme. Ce dernier résultat infirme un des arguments principaux de plusieurs chercheurs, partisans de la première hypothèse, notamment, que les quantités d'ions échangeables sont trop élevées pour qu'on puisse localiser tous les sites d'échanges à la surface du cytoplasme : cette surface s'est avérée beaucoup plus grande que ne le supposent ces chercheurs.

De plus, des travaux récents (Keller et Deuel 1957 ; Jansen et coll. 1960) montrent que la capacité d'échange des parois cellulaires n'est pas du tout négligeable ; Jansen et coll. constatent aussi que le système d'échange des parois peut rendre compte des échanges observés dans des tissus vivants par Cooil et Bonner (1957) et par Tagava et Bonner (1957).

En conclusion, rien ne s'oppose plus à localiser les sites d'échange, soit dans les parois, soit dans les régions superficielles du cytoplasme, soit dans les deux (nous y reviendrons), et à considérer que la pellicule ectoplasmique est peu perméable aux ions à l'état libre.

Cela dit, il ne faut pas perdre de vue que cette pellicule est une membrane vivante, à structure très complexe, dont les propriétés sont sujettes à des variations en étroit rapport avec les événements qui se produisent de ses deux côtés. Plusieurs de ses propriétés : dimensions, perméabilité à une substance, nature et nombre des éventuels sites d'absorption ou d'échange, localisation de ces sites, subissent sans doute de fréquentes modifications, déterminées, d'une part, par l'état physiologique des cellules et de l'autre par les facteurs externes (composition du milieu, température, aération etc.).

II - L'ABSORPTION EN FONCTION DU TEMPS DANS L'E.L.

1 - Les différents composants de l'e.l.

Nous distinguerons deux composants de l'e.l.

a) *l'e.l. primaire.* Cet espace correspond aux régions du tissu (parois cellulaires, espace entre les parois et la barrière de diffusion) où les solutés pénètrent par diffusion. Les Anglo-Saxons le désignent par "outer space" (Esptein 1955) ou surtout par "water free space" (e.l. de l'eau) (Briggs et Robertson 1957, Laties 1959) ; ce terme est, nous semble-t-il, peu approprié puisque d'une part, l'e.l. occupe par définition les régions *extérieures* à la barrière de diffusion, et que d'autre part, les expériences classiques (de plasmolyse) et modernes (avec l'eau tritiée) (Ducet 1959) montrent que les principales membranes cellulaires vivantes sont perméables à l'eau.

b) *l'e.l. secondaire.* Cet espace correspondrait aux régions dans lesquelles les ions sont réversiblement absorbés par d'autres mécanismes que la diffusion, bien que, probablement, ils atteignent ces régions par diffusion. Peut-être vaudrait-il mieux le définir en termes de sites d'absorption réversible plutôt qu'en termes de régions. L'épithète secondaire nous semble préférable à ceux "d'échanges" ou de "Donnan" fréquemment employés par les Anglo-Saxons car les réactions réversibles ne comportent sans doute pas uniquement des échanges ; ou tout au moins ne comportent pas uniquement des échanges physiques, comme l'impliquent ces termes. De plus, les qualificatifs primaire et secondaire évoquent l'ordre dans lequel se produit probablement l'absorption dans l'e.l. : les ions atteignent les sites d'absorption réversible par l'intermédiaire de l'e.l. primaire.

2 - Méthodes de mesure de l'absorption réversible en fonction du temps

Différentes méthodes sont employées pour mesurer l'absorption des ions dans l'e.l. en fonction du temps. :

1ère méthode : Elle ressort des courbes d'absorption diphasiques souvent rencontrées dans les études d'absorption en fonction du temps (figure 62). On soustrait des différentes valeurs obtenues pour l'absorption brute, celles correspondant à la partie linéaire extrapolée jusqu'à l'axe des Y. La nouvelle courbe ainsi obtenue (OM_1) représenterait l'absorption réversible ; la durée de celle-ci (OX_1) serait égale à la valeur de X au moment où cette courbe atteint pratiquement son asymptote horizontale.

Cette méthode repose sur deux postulats :

- la phase linéaire représente l'absorption irréversible et elle seule,
- l'absorption irréversible se poursuit à vitesse constante dès le début.

Une variante de cette méthode consiste à opérer dans des conditions où l'absorption irréversible est supposée nulle (basse température, présence d'inhibiteurs etc.).

2ème méthode : La courbe d'absorption réversible correspondrait à celle de l'exsorption (durée fixe) tracée en fonction de la durée d'absorption préalable. Cette méthode n'est satisfaisante que dans la mesure où les masses exsorbées représentent tous les ions réversiblement absorbés et eux seuls.

3ème méthode : Les organes ou les tissus sont mis à absorber pendant une durée suffisamment longue. On les transfère par la suite dans un milieu convenable où l'on suit, (souvent à basse température) l'exsorption en fonction du temps). La critique formulée pour la deuxième méthode est valable pour celle-ci aussi ; de plus cette méthode considère que la marche de l'absorption réversible et celle de son exsorption sont à peu près similaires, ce qui, nous le verrons, n'est pas toujours certain.

L'emploi d'une seule de ces méthodes sans vérification préalable des postulats impliqués peut conduire à des erreurs. Cette vérification peut s'effectuer par l'emploi des deux autres méthodes ou par d'autres moyens.

3 - Allure des courbes

En général ces courbes présentent une partie curviligne qui tend assez rapidement vers une asymptote horizontale (Epstein et Leggett 1954, Briggs et coll. 1958 ainsi que nos propres résultats, figure 11 et 12). Quelques exceptions sont toutefois à noter. Jacobson et coll. (1958) ont étudié l'exsorption du K dans l'eau (60 mn) en fonction de la durée d'absorption : lorsqu'on trace la courbe des valeurs obtenues, en fonction du temps, on constate que son asymptote reste inclinée. Mlle Bensimon (1960) a constaté que les masses de Rb exsorbées dans l'eau pendant 30 mn augmentent continuellement avec la durée d'absorption (24 heures).

4 - Durée de l'absorption réversible

Nos expériences relatives à l'exsorption en fonction du temps d'absorption montrent que les quantités exsorbées (60 mn) dans de l'eau ou dans une solution de RbCl, après 30 à 60 mn d'absorption préalable, se maintiennent à peu près constantes (figure 11). Si l'on admet comme le suggère l'analyse de nos expériences d'exsorption, que les masses exsorbées reflètent en grande partie l'absorption réversible, la durée de celle-ci, déterminée dans le cas présent par la deuxième méthode, est de 30 à 60 mn. Il y a lieu de remarquer que si l'on se réfère aux courbes d'exsorption en fonction de la durée d'exsorption (troisième méthode), celles-ci on l'a vu, montrent deux phases, la première des deux, c'est-à-dire celle qui correspondrait à l'absorption réversible, dure 20 à 40 mn seulement, période plus courte (figure 9).

Au tableau XXVII nous reproduisons quelques valeurs pour la durée de l'absorption réversible relevées de divers travaux. Ces valeurs, comme on le voit, varient considérablement d'après les auteurs.

Le système ou l'ion étudié ne peuvent être seuls mis en cause, puisque les différences persistent même pour des résultats obtenus avec matériel et ions identiques.

Les variations sont beaucoup plus importantes pour les cations que pour les anions : la durée de l'absorption de ces derniers n'est jamais supérieure

Tableau XXVII

Durée de l'absorption réversible d'après divers chercheurs

Pour les différentes méthodes voir le texte.

Les dimensions des systèmes étudiés sont à peu près les suivantes : racines, 0,5 mm de diamètre ; tranches de tissus parenchymateux, 1 mm d'épaisseur.

Système Etudié	Ion	Méthode	Durée	Référence
Racines de Blé excisées	phosphorique	1ère Méthode (variante) (l'absorption a lieu à 0°)	15 à 30 mn	Butler (1953 b)
Racines d'Orge excisées	phosphorique	1ère Méthode (variante) (l'absorption a lieu à pH 8,7 où l'absorption active du phosphate est bloquée)	5 mn	Jacobson et coll. (1958)
Racines d'Orge attachées aux plantes	phosphorique	ibid	15 mn	"
Racines d'Orge excisées	phosphorique	1ère Méthode	1 mn	Hagen et coll. (1957)
Racines de Blé excisées	Cl ⁻	1ère Méthode	15 mn	Lundegårdh (1958 a)
Racines d'Orge excisées	K ⁺	2ème Méthode (exs eau)	60 mn au moins	Jacobson et coll. (1958)
Racines d'Orge excisées	K ⁺ , Rb ⁺ , Na ⁺	1ère Méthode	1 mn	Fried et coll. (1958)
Racines d'Orge excisées	Rb ⁺	2ème Méthode (exs eau)	plusieurs heures	Bensimon (1960)
Racines d'Orge excisées	Sr ⁺⁺	2ème Méthode (exs SrCl ₂)	30 mn	Epstein et Leggett (1954)
Tranches de Betterave	Br ⁻	3ème Méthode (exs RbBr)	20 à 30 mn	Briggs et coll. (1958)
Tranches de Betterave	Rb ⁺	3ème Méthode (exs RbBr)	90 mn	"
Tranches de Betterave	Ca ⁺⁺	3ème Méthode (exs CaCl ₂)	200 mn	"

à 30 mn, tandis que celle de cations peut-être plus longue. Cela est probablement en rapport avec le fait que l'absorption réversible des anions porte essentiellement sur l'e.l. primaire, tandis que celle des cations porte également sur l'e.l. secondaire. Mais même pour les anions, les durées sont loin d'être du même ordre de grandeur et dans un cas la différence est assez accusée : dans les expériences de Jacobson et coll. l'entrée du phosphate dans les racines excisées est pratiquement terminée après 5 mn, tandis que la pénétration dans des racines attachées à la plante, se poursuit 15 mn, et cela malgré un surcroît d'absorption de 30 % en faveur des premières. Les causes de ces variations sont difficiles à déceler. Hope (1953), Butler (1953 b) partant du fait que l'entrée des ions dans l'e.l. primaire est un phénomène de diffusion, comparent la vitesse de pénétration observée, à la vitesse théorique, calculée à partir des lois de diffusion. Les deux valeurs diffèrent plus ou moins l'une de l'autre, mais comme l'a remarqué Butler de tels calculs appliqués à un système aussi complexe que les racines, sont assez douteux.

Quoiqu'il en soit la mise au point de techniques de mesure plus précises est souhaitable, car nous verrons que la connaissance de cette durée est importante pour élucider les relations entre absorptions réversible et irréversible.

Quant aux durées relativement longues souvent observées pour les cations, Briggs (1957) en donne l'interprétation suivante : une partie des cations pénètre dans l'e.l. par des phénomènes d'échange. Il est probable que les ions arrivent aux sites d'échange par diffusion ; mais, s'ils sont isotopiquement différents des ions originellement retenus sur ces sites, le temps nécessaire pour l'établissement de l'équilibre avec la solution extérieure ne dépendra pas seulement de la vitesse de diffusion des ions extérieurs dans le système étudié, mais aussi de la vitesse d'équilibration isotopique entre l'e.l. et le milieu ambiant. Or cet équilibre, par suite des échanges continus entre les cations de l'e.l. primaire et les cations échangeables, est plus long à atteindre qu'un simple équilibre de diffusion. Ces considérations sont également applicables à des échanges entre ions chimiquement différents.

Cette explication, valable sans doute dans plusieurs cas, ne peut-être appliquée aux valeurs extrêmes citées pour les cations. Les durées très courtes rapportées pour les ions alcalins par Fried et coll. sont peut-être dues à leur méthode de mesure. Ces chercheurs se réfèrent aux courbes d'absorption en fonction du temps par des racines qui ont été lavées pendant 1 mn. Ces courbes ressemblent à celles de l'absorption brute que j'ai obtenues : elles présentent une première partie, curviligne correspondant à des durées très brèves, suivie d'une deuxième partie qui reste linéaire pendant 20 à 30 mn. Selon Fried et coll., la partie linéaire correspondrait à l'absorption irréversible, ce qui n'est pas certain, comme on l'a vu.

Deux de nos expériences personnelles nous ont suggéré la formation de nouveaux sites d'absorption réversible au cours de l'absorption : l'une portait sur l'effet de la température d'absorption sur l'exsorption ultérieure, l'autre sur l'influence du transfert des racines d'une température d'absorption à une autre, sur le même phénomène. L'hypothèse de formation de nouveaux sites permettrait d'interpréter divers résultats que nous venons de citer :

- ceux de Jacobson et coll. et ceux de Mlle Bensimon qui montrent que les masses exsorbées augmentent avec la durée de l'absorption ;

- nos résultats personnels indiquant que l'absorption du Rb exsorbable est plus longue que son exsorption.

III - L'ABSORPTION IRREVERSIBLE EN FONCTION DU TEMPS

1 - Méthodes de mesure

Deux méthodes sont le plus couramment employées : l'une utilise la courbe d'absorption diphasique (figure 62). On extrapole la partie linéaire de cette courbe jusqu'à l'axe des ordonnées, et l'on considère le point de rencontre O_0 comme l'origine des axes de la courbe de l'absorption irréversible. On estime, sans preuve certaine, que la vitesse de l'absorption irréversible est constante dès le début et cette méthode n'est évidemment pas valable pour l'étude de la marche initiale de cette absorption.

La deuxième méthode consiste à tracer la courbe des absorptions résiduelles, après exsorption dans un milieu convenable. Elle est exacte dans la mesure où l'exsorption représente toute l'absorption réversible et elle seule.

2 - Le déroulement initial de l'absorption irréversible

La plupart des travaux sur la marche initiale de l'absorption irréversible, celle-ci étant mesurée par la deuxième méthode, rapportent que les courbes des absorptions résiduelles manifestent dès le tout début une partie linéaire de durée variable, qui coupe l'axe des ordonnées soit à son origine, soit en dessus. Nous présentons dans le tableau XXVIII quelques uns de ces travaux, ainsi que les conditions d'exsorption, la position de l'ordonnée à l'origine et l'intervalle de temps entre le début de l'absorption et le premier prélèvement. Mes expériences personnelles confirment dans la plupart des cas ce résultat : la deuxième partie des courbes des absorptions résiduelles (exs eau) ou (exs RbCl) est sensiblement linéaire même si le premier prélèvement a été effectué dès la 2ème minute après le début de l'absorption (figure 17). Selon que l'exsorption a lieu dans de l'eau ou dans une solution de RbCl, la partie linéaire, extrapolée, coupe l'axe des ordonnées plus ou moins au-dessus de son origine. Notons toutefois que dans les expériences où l'absorption brute manifeste une phase ondulée (figure 20), la vitesse de l'absorption résiduelle augmente en fonction du temps pendant les premiers 15 mn environ.

D'après Lundegårdh (1949 b) le mécanisme d'absorption du KCl par des racines de Blé subit une période d'induction de 30 à 35 mn. L'absorption ayant été mesurée par des méthodes de conductivité, il n'est pas possible de vérifier si l'absorption du KCl était effectivement plus faible au début de l'absorption, où s'il n'y avait pas une sortie temporaire d'ions lors du transfert des racines, de l'eau à la solution d'absorption. Une telle sortie a été observée par Humphries (1950), Jacobson et coll. (1958), et sans doute faudrait-il étudier ce phénomène de plus près.

Quoiqu'il en soit, les expériences citées dans le tableau XXVIII et celles présentées dans ce mémoire montrent que, très souvent, la vitesse d'absorption devient constante dès la première ou la seconde minute d'absorption, autrement dit que l'établissement de l'état de régime de l'absorption est extrêmement rapide. Ce phénomène est fort étonnant car, en général, on considère que les ions sont absorbés par toutes les cellules intéressées par l'e.l. primaire et par conséquent l'établissement de l'état de régime de l'absorption devrait suivre dans le temps celui de la diffusion dans l'e.l. primaire. Or, les durées rapportées pour l'absorption dans cet espace sont, nous l'avons vu, dans la plupart des cas supérieures à 5 mn, c'est-à-dire supérieures à celles pour lesquelles la vitesse d'absorption devient constante.

Tableau XXVIII

Travaux mettant en évidence une absorption irréversible, linéaire dès le début de l'absorption

Système étudié	Ion	Milieu d'exsorption	Intervalle de temps écoulé avant le 1er prélèvement	Valeur de l'ordonnée à l'origine	Référence
Racines excisées d'Orge	Sr^{++}	Solution de SrCl_2	30 mn	0 ou > 0	Epstein et Leggett (1954)
"	phosphorique	Lavage dans l'eau (1 mn)	1 mn	> 0	Hagen et coll. (1957)
"	$\text{K}^+ \text{Na}^+$	Lavage dans l'eau (1 mn)	5 mn	> 0	Fried et coll. (1958)
"	Ca^{++}	Solution de CaCl_2	5 mn	> 0	"
Plantules d'Orge	Rb^+	Lavage dans l'eau, 1 mn (exsorption insignifiante dans l'eau ou dans une solution identique à celle de la solution de l'absorption)	30 mn	0	Helder (1958)

Différentes hypothèses sont à considérer pour rendre compte de cette contradiction.

- les techniques de mesures des différents phénomènes impliqués sont déficientes.

- certaines régions de l'e.l., par exemple entre les parois et le cytoplasme atteignent plus rapidement que d'autres l'état de régime de diffusion avec le milieu extérieur.

- l'état de régime surtout au tout début de l'absorption n'est qu'apparent ; on peut par exemple supposer la superposition de processus irréversibles, les uns à vitesse croissante les autres à vitesse décroissante, le tout donnant une absorption sensiblement linéaire.

- l'absorption irréversible s'effectue par les seules cellules superficielles et non par toutes les cellules intéressées par l'e.l. Ce point de vue est avancé par Van den Honert (1936) et par Van den Honert et Hooymans (1955) qui s'appuient sur l'argument suivant : les Q_{10} des vitesses de diffusion sont voisins de 1, tandis que ceux de l'absorption sont en général plus élevés. Si la diffusion intervenait dans l'absorption, la vitesse de celle-ci, pour des concentrations extérieures faibles (c'est-à-dire lorsque la concentration extérieure est un facteur limitant de l'absorption) serait également déterminée par la vitesse de diffusion. Par conséquent les Q_{10} correspondant aux faibles concentrations devraient être plus petits. Or, l'expérience montre qu'ils ne varient pas avec la concentration extérieure d'absorption, ce qui d'après ces chercheurs démontre que l'absorption des ions ne peut-être précédée par une diffusion préalable dans le tissu. Ils en concluent que l'absorp-

tion s'effectue par l'intermédiaire des cellules superficielles et uniquement par leur partie externe.

Il est difficile de se prononcer à priori en faveur de l'une ou l'autre de ces différentes hypothèses. Seules des expériences complémentaires, plus précises, pourront mieux nous informer sur les différents processus de l'absorption initiale.

3 - Relations entre l'absorption initiale et l'absorption irréversible

Certains chercheurs (Epstein et Leggett 1954, Epstein 1956, Laties 1959) tenant compte de ce que l'absorption du Sr^{++} dans l'e.l. se poursuit pendant 30 mn environ, tandis que l'absorption résiduelle (exs. SrCl_2) est linéaire dès le début, considèrent qu'il n'y a pas de relation directe entre l'absorption dans l'e.l. et l'absorption irréversible.

Fried et coll. (1958), Hagen et coll. (1957), (1959) ont constaté que la partie linéaire de la courbe diphasique, qu'ils considèrent comme représentant l'absorption irréversible en fonction du temps, coupe l'axe des ordonnées au-dessus de son origine (Tableau XXVIII). Ayant tracé ces courbes pour différentes concentrations, ils constatent que les valeurs des ordonnées à l'origine, correspondant aux diverses concentrations, sont directement proportionnelles aux valeurs des pentes respectives des parties linéaires. Ces valeurs des ordonnées, concluent-ils, représentent et mesurent l'association ion-vecteur.

D'autres travaux rapportent également des relations similaires entre l'absorption aux différentes concentrations et diverses fractions de l'absorption initiale, ces fractions étant cependant très différentes l'une de l'autre. Par exemple Higinbotham et Hanson (1955) ont obtenu des relations linéaires entre les valeurs des pentes et celles des ordonnées à l'origine des courbes diphasiques de l'absorption à diverses concentrations. A la différence des résultats obtenus par Fried et coll. et Hagen et coll. (cf. tableau XXVIII) ces courbes ne deviennent linéaires qu'après 60 à 120 mn, et les valeurs des ordonnées à l'origine correspondraient plutôt à l'absorption réversible.

Moi-même, dans une note parue en 1958, j'ai remarqué l'existence d'une relation linéaire entre l'absorption brute pour différentes concentrations et les quantités de Rb exsorbées dans de l'eau, lorsque ces dernières sont diminuées des masses de Rb dans l'e.l. primaire, évalué à 10 %. Ajoutons que cette relation s'observe également pour le Rb exsorbé dans une solution de RbCl .

D'après Lundegårdh (1958 b) l'absorption brute pendant les premières 15 mn représente le niveau de concentration qui détermine la vitesse d'absorption par la suite.

Le fait que ces relations s'appliquent à des fractions si diverses de l'absorption initiale, ébranle fortement la conclusion qui en a été tirée par les différents chercheurs.

4 - Variations de la vitesse d'absorption irréversible

Les courbes d'absorption irréversible présentent très rapidement une partie linéaire, nous l'avons vu plus haut. La durée correspondant à cette partie varie de 20 à 30 mn (résultats personnels) à plusieurs heures (Epstein

et Leggett 1954. Lundegårdh 1958) et même à plusieurs jours (Higinbotham et Hanson 1955). Cette durée dépend d'ailleurs de multiples facteurs : espèce ionique étudiée (Fried et coll. 1958), composition du milieu extérieur en ions autres que l'ion étudié (Middleton et Russel 1958), système étudié, par exemple, plantes entières (croissance continue) ou racines excisées et tranches de tissus parenchymateux (croissance nulle ou faible) etc.

En général pour les systèmes à croissance faible, les seuls qui nous intéresseront ici, la vitesse d'absorption après la période linéaire diminue graduellement pour devenir au bout d'un certain temps nulle (Hoagland et Broyer 1936, Sutcliffe 1954 b). Les systèmes ont alors atteint leur concentration maximale en ions (concentration de saturation).

Les expériences présentées plus haut, montrent également que la vitesse d'absorption, dans ce que nous avons appelé la troisième phase, diminue régulièrement en fonction du temps. Dans des expériences similaires, mais plus longues (24 heures), effectuées par Mlle Bensimon (1960), quelques irrégularités ont pu se présenter au cours de cette diminution.

Certains travaux rapportent toutefois une augmentation très sensible (parfois de longue durée) de la vitesse d'absorption au cours du temps. Le plus souvent ces travaux portent soit sur l'accumulation par des tranches de tissus parenchymateux insuffisamment prétraitées à l'eau distillée (Sutcliffe 1952), soit sur l'absorption d'ions, tels les ions phosphoriques, particulièrement actifs dans le métabolisme cellulaire (Butler 1953 c, Mlle Bensimon 1960).

Quoiqu'il en soit, lorsque les durées de l'absorption sont suffisamment longues, la vitesse d'accumulation tend à devenir nulle. Ce phénomène ne paraît pas être dû simplement à un épuisement du substrat respiratoire au cours de l'expérience : Hoagland et Broyer (1936) constatent que les racines d'Orge qui se saturent en sels possèdent encore des réserves en sucres, tandis que Sutcliffe (1952) trouve que le phénomène de saturation de tranches de Betterave en K n'est pas suivi d'une baisse de l'intensité respiratoire.

Sutcliffe (1952, 1954), Steward et Sutcliffe (1958) attribuent le ralentissement de l'absorption avec le temps à la teneur du matériel expérimental en l'ion étudié. Mes résultats s'accordent avec ce point de vue, puisque la vitesse d'absorption du Rb est, nous l'avons vu, proportionnelle aux quantités de Rb déjà absorbées suivant la relation :

$$\frac{dRb_a}{dt} = k (Rb_m - Rb_a)$$

Rb_a = masse de Rb absorbée ;

k = constante de vitesse,

Rb_m = masse théorique maximale de Rb susceptible d'être absorbée par les racines au cours du temps.

Si nous acceptons l'hypothèse de Sutcliffe, le phénomène de saturation traduit l'existence d'un équilibre entre les ions de l'extérieur et les ions absorbés ; mais alors comment concilier l'existence d'un équilibre, donc d'un processus réversible avec l'irréversibilité de l'absorption ?

Cette question sera examinée à titre d'exemple en supposant que l'absorption consiste en une association ion-vecteur suivie d'une dissociation. Cependant les processus impliqués sont probablement beaucoup plus complexes.

La première équation qui nous vient à l'esprit est :



M_e^+ = cation à l'extérieur ;

R^- = vecteur de cations ;

M_s^+ = cation absorbé.

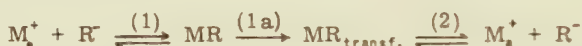
Mais, si (2) est irréversible, il n'y aurait pas de phénomène de saturation. Il nous faut donc admettre que (2) est réversible.

Mais alors toute l'absorption est réversible ce qui n'est pas le cas. Donc (1) est irréversible :



A mesure que la concentration de M_s^+ s'élève, la dissociation de MR est inhibée, de sorte que moins de R^- est disponible pour effectuer la réaction (1). Lorsque la concentration de M_s^+ est suffisamment grande tout le vecteur est pratiquement sous forme de MR.

Si toutefois on veut supposer que la première association ion-vecteur est réversible, il nous faut intercaler entre (1) et (2) une transformation irréversible du complexe MR



CHAPITRE XI

L'EXSORPTION

La courbe d'exsorption en fonction de la durée d'exsorption comporte très souvent deux phases, l'une rapide et brève, l'autre plus lente et prolongée. L'exsorption lente, caractéristique de la deuxième phase, est un phénomène fréquemment observé lorsque les organes ou tissus sont plongés dans l'eau ou dans une solution saline (Steward 1932 a, revue de Loehwing 1937, Helder 1957, Gabet et Heller 1962, résultats personnels, (figure 19). On l'attribue à une sortie lente des ions irréversiblement absorbés.

Les causes de ce phénomène ne sont pas tout à fait élucidées. Son intensité dépend, entre autres facteurs, d'une part de la composition du milieu ambiant, dont l'action porte sans doute sur les propriétés semi-perméables de la membrane de diffusion cellulaire (Miller 1938), et, d'autre part, de l'état physiologique du système étudié : stade de développement, teneur en ions, etc. (Stenlid 1958).

Cependant nous n'approfondirons pas l'examen de ce phénomène et la discussion ci-dessous portera essentiellement sur l'exsorption pendant la première phase.

Nous examinerons successivement :

- l'influence du mode opératoire sur l'exsorption,
- l'exsorption dans l'eau,
- l'exsorption dans des solutions salines.

I - L'INFLUENCE DU MODE OPERATOIRE SUR L'EXSORPTION

a - Mode de préparation des racines après l'absorption

Les organes, avant leur transfert dans le milieu d'exsorption, subissent différents traitements pour les débarrasser de la couche de liquide d'absorption adhérent à leur surface. Trois procédés sont fréquemment employés : essuyage, centrifugation et lavage.

L'essuyage n'enlève pas totalement la couche de liquide d'absorption, surtout dans le cas d'organes comme les racines ayant un rapport "surface/volume" élevé ; en outre, un essuyage uniforme n'est pas réalisable aisément, et il peut provoquer des lésions chez des organes délicats.

Le lavage ne permet pas de délimiter la fin du départ de la couche adhérente et le commencement de l'exsorption proprement dite. Il présente toutefois l'avantage d'être rapide et aussi de ne pas trop augmenter les erreurs d'expérience.

Quant à la centrifugation, il est difficile d'apprécier dans quelle mesure elle enlève toute la couche de liquide d'absorption et n'influence pas l'exsorption. En outre, cette manipulation est relativement longue et une partie des ions exsorbables peut-être fixée entretemps. Cette méthode est surtout commode par ce qu'elle diminue les erreurs d'expérience dues au mode de préparation.

Donc, aucun de ces procédés n'est tout à fait satisfaisant. Le choix de l'une des trois méthodes doit être déterminé par le système étudié, et surtout par le problème envisagé. Quoiqu'il en soit, l'emploi de ces méthodes, si l'on ne tient pas compte de leurs inconvénients, peut mener, nous le verrons, à des conclusions erronées.

b - Température

Ce facteur est important à double titre, car il peut influencer directement l'exsorption et aussi parce qu'à température élevée il y a une réabsorption des ions exsorbés.

La plupart des chercheurs étudient l'exsorption soit à température élevée (Epstein 1955, Helder 1957, 1958, Lundegårdh 1959), soit à température voisine de 0° (Sutcliffe 1957, Briggs et coll. 1958).

Quelques uns de nos essais d'exsorption ont été conduits parallèlement à 1°-2° et 25°. Dans certains milieux, eau, solutions de CaCl_2 et NaCl , il se produit à 25°, une réabsorption du Rb exsorbé au cours du temps. Ces milieux n'inhibent pas manifestement, ou, du moins, n'inhibent pas complètement, l'absorption du Rb. Ce phénomène de réabsorption ne permet pas dans ces conditions de suivre l'influence de la température sur l'exsorption. Pour cela il aurait fallu changer très fréquemment les milieux d'exsorption, comme l'on fait Gabet et Heller (1962) ; ou encore mieux, employer des milieux coulants. Dans des solutions de KCl ou de RbCl , la réabsorption du Rb, à 25°, est compétitivement inhibée par les ions Rb^+ ou K^+ non marqués. Les masses exsorbées à 25° sont légèrement supérieures à celles exsorbées à 1°-2°. Nous en avons conclu que la température affecte peu l'exsorption dans ces milieux. Mlle Bensimon (1960) rapporte, toutefois, un effet positif de la température sur l'exsorption du Rb dans une solution de RbCl , par des racines qui après avoir absorbé cet ion au préalable séjournent 30 mn environ dans de l'eau à 25°.

Des études plus critiques de l'influence de la température sur l'exsorption sont sans doute nécessaires.

Toutefois, dans la mesure où l'on cherche à l'aide de l'exsorption à connaître l'absorption réversible, il est préférable d'opérer à des températures voisines de 0°, où le métabolisme est réduit.

c - Rapport du poids des organes au volume et à la concentration du milieu d'exsorption

Ce rapport doit être établi de telle sorte que très peu d'ions, exsorbables dans le milieu d'exsorption, restent dans les organes lorsque l'équilibre entre les ions de ce milieu et ceux de l'espace libre est atteint.

Il nous faut distinguer trois cas :

1/ L'exsorption est limitée aux ions de l'e.l. primaire.

Il est très facile, dans ce cas, de calculer approximativement le pour-

centage d'ions exsorbables maintenus dans les organes ou tissus à l'équilibre : si l'on considère la densité de ses système égale à 1, et si $\underline{a}$ désigne le rapport "volume/poids" et $\underline{b}$ la grandeur estimée de l'e.l. primaire par unité de poids, ce pourcentage est égal à $\frac{b.100}{\underline{a} + \underline{b}}$.

2/ Les ions exsorbés dans l'eau proviennent non seulement de l'e.l. primaire mais d'autres régions également.

Ce cas a été rencontré dans nos expériences : les masses exsorbées augmentaient avec le rapport "volume d'eau/poids des racines", mais restaient constantes pour des rapports suffisamment grands, c'est-à-dire, pour une concentration extérieure résultante en Rb suffisamment faible (tableau II). Dans de tels cas, les rapports convenables doivent être déterminés empiriquement. Peu de chercheurs ont toutefois prêté attention à ce facteur, mais il est vrai aussi, nous le verrons, que peu de chercheurs ont approfondi l'étude de l'exsorption dans l'eau d'origine différente de l'e.l. primaire.

3/ L'exsorption est en partie due à des échanges.

Ce cas a été examiné par Briggs (1957) et Briggs et Robertson (1958). Leur analyse originellement conçue pour des échanges du type de Donnan, peut être également appliquée à des cas où les échanges sont plus spécifiques. Ces chercheurs ont montré comment le choix des volumes et des concentrations salines convenables (c'est-à-dire, où pratiquement tous les ions échangeables sont échangés) est lié à la concentration des sites d'échange et à la charge des ions mis en jeu dans les échanges. Sur le plan pratique, ce choix doit être lui aussi, déterminé empiriquement.

d - Mesure de l'exsorption

Deux méthodes sont le plus souvent employées. Dans la première, l'organe est mis à absorber dans une solution contenant des ions marqués avec des isotopes radioactifs ; à la fin de l'absorption, il est transféré dans un milieu non marqué, dans lequel la radioactivité est mesurée par la suite. C'est la méthode employée dans le présent travail. La deuxième méthode n'emploie pas des isotopes marqués ; la sortie de l'ion étudié après son absorption préalable est mesurée par dosage chimique. Aucune de ces méthodes n'est satisfaisante pour l'étude des échanges. La première méthode ne permet pas de préciser dans quelle mesure les ions exsorbés sont effectivement remplacés par les ions de l'extérieur. La deuxième méthode présente le même inconvénient que la première, et, en outre, seuls les échanges entre ions chimiquement différents peuvent être suivis. De plus, sa précision dépend des méthodes de dosage. Si l'on veut approfondir l'étude de l'exsorption, il est indispensable de mesurer à la fois, l'entrée et la sortie, non seulement de l'ion étudié au principal, mais aussi éventuellement, celles d'autres ions. Ceci n'est réalisable que par un choix convenable des méthodes isotopiques et chimiques, mais les problèmes techniques soulevés sont assez compliqués.

II - L'EXSORPTION DANS L'EAU

Les ions exsorbés dans l'eau proviennent de l'e.l. primaire et, éventuellement, d'autres régions.

a - Exsorption par l'e.l. primaire

Grandeur théorique de l'e.l. primaire

Dans le chapitre précédent nous avons localisé l'e.l. primaire dans les parois et dans la région entre la paroi et le cytoplasme. Ajoutons à ces régions les espaces intercellulaires, dans la faible mesure où ils sont pourvus de liquide.

Butler (1953 b) utilise les données de divers chercheurs sur les dimensions des cellules, l'épaisseur des parois, la grandeur des espaces intercellulaires pourvus de liquide, pour évaluer les volumes de jeunes racines de Blé, occupés respectivement par les parois et par les espaces intercellulaires remplis de liquide ; il aboutit à une valeur de 11 à 12 % pour le premier, et de 3 % pour le second.

Levitt (1957), s'appuyant sur les valeurs données par Hope et Stevens (1952) pour le poids sec des parois, sur celles obtenues dans ses propres expériences relatives au degré d'hydratation de la cellulose, et, enfin, sur les valeurs rapportées par Cormack (1956) pour l'hydratation des pectines, estime à 10 % le volume des racines occupé par les parois, dont 9/13 seraient remplis de liquide, ce qui donne finalement une valeur de 7 % environ pour le volume du liquide pariétal.

Ces calculs sont évidemment très approximatifs. Néanmoins, les valeurs à peu près équivalentes obtenues par Butler et par Levitt pour les parois, la faible valeur dans des conditions normales de l'espace entre les parois et la pellicule ectoplasmique, nous permettent d'assigner à l'e.l. primaire une limite supérieure de 15 %, valeur donnée par Butler pour tous les espaces extra cytoplasmiques pourvus de liquide ; il est possible que la valeur réelle soit effectivement plus petite. Ces limites s'appliquent surtout à des jeunes racines de Graminées ; sans doute faut-il prévoir des variations de la grandeur de l'e.l. primaire selon l'organe ou le tissu envisagé.

Valeur expérimentale de l'e.l. primaire

Le critère d'une exsorption par l'e.l. primaire, et par lui seul, est l'indépendance relative du rapport, masses ioniques exsorbées/concentration d'absorption, de cette dernière. Ces rapports servent souvent à l'estimation de l'e.l. Dans nos expériences avec l'ion Rb^+ , ce rapport varie avec la concentration extérieure (tableau IV), d'où l'impossibilité d'appliquer cette méthode pour la mesure de cet espace. Nous avons pu, toutefois, lui fixer une limite supérieure, en soustrayant des $Rb_{(ex, eau)}$ obtenus pour les différentes concentrations, les quantités de Rb respectivement contenues dans des e.l. primaires supposés égaux à 10, 20 et 30 % (figure 14). Les valeurs ainsi obtenues, représentatives de l'absorption réversible dans l'eau par des mécanismes différents de la diffusion dans l'e.l. primaire, augmentent avec la concentration extérieure lorsque l'e.l. est supposé inférieur à 20 %, mais diminuent à partir de certaines concentrations, pour des valeurs plus grandes. Nous avons conclu que l'e.l. primaire est inférieur à 20 % du volume des racines. Ces considérations sont valables, nous le rappelons, pour des racines lavées pendant 5 sec.

Dans le tableau XXIX nous présentons quelques valeurs de cet espace données par divers chercheurs, ainsi que leur méthode de mesure. On constate des variations assez grandes entre elles, et souvent elles dépassent la limite supérieure théorique assignée à l'e.l. primaire.

Tableau XXIX
Valeurs de l'e.l. primaire selon les différents chercheurs

Système étudié	Ion	Traitement à la fin de l'absorption	Méthode de mesure	Valeur de l'e.l. primaire (% du poids de l'organe du tissu)	Référence	Remarques
Racines d'Orge excisées	SO ₄ ⁻	Essuyage	Exsorption dans l'eau	25	Epstein (1955)	
"	SeO ₄ ⁻	"	"	22	"	
"	Ca ⁺⁺	"	"	24	"	
"	phosphorique	"	"	24	"	
Racines d'Orge excisées	phosphorique	Essuyage	Exsorption dans l'eau	36	Bensimon (1960)	Les racines sont pesées après centrifugation à 4500 t/mn.
"	"	lavage pendant 1 sec	"	30	"	
"	"	" " 5 "	"	14	"	
"	"	" " 20 "	"	9	"	
Racines d'Orge excisées	phosphorique	Centrifugation	Absorption à pH 8,7	31	Jacobson et coll. (1958)	Le pH élevé inhibe l'absorption métabolique du phosphate
"	"	Centrifugation suivie de lavage pendant 10 sec.	"	18 - 20	"	
Racines d'Orge liées à la plante		Centrifugation		20	"	
Racines de Blé excisées	Cl ⁻	Essuyage	Extrapolation de la partie linéaire de la courbe diphasique de l'absorption en fonction du temps	24,5	Butler (1953b)	
"	"	"	Absorption en présence de 5 x 10 ⁻⁵ mM/l du DNP	33,7	"	
"	phosphorique	"	Absorption à 0°	33,3	"	
Racines de Pois liées à la plante	Cl ⁻	Essuyage	Soustraction des quantités totales absorbées à 0° d'une quantité de Cl proportionnelle aux masses d'eau absorbées. Cette quantité est calculée indirectement à partir du coefficient de regression de la fonction (Cl absorbé) = f (eau absorbée)	7	Hylmö (1953)	
Vallisneria gigantea	SO ₄ ⁻	Essuyage	Exsorption dans l'eau	5,7	Kylin (1957)	
Vallisneria spiralis	"	"	"	4,5	"	
Tranches de Betterave	Br ⁻	Essuyage	Exsorption dans une solution de RbBr	15 - 20	Briggs et coll. (1958)	0°

Causes des variations

Une première cause des variations est sans doute le système étudié par exemple, les valeurs rapportées pour les feuilles de *Vallisneria* sont nettement inférieures aux autres.

Levitt (1957) attribue les valeurs élevées obtenues par Epstein (1955) et Butler (1953 b), à l'essuyage insuffisant des racines à la fin de l'absorption. Il attire l'attention sur les valeurs plus faibles de l'e.l. pour des organes dont le rapport surface/volume est relativement petit.

Le point de vue de Levitt est confirmé par les expériences de Mlle Ben-simon avec l'ion phosphorique. Les valeurs de l'e.l. diminuent selon que les racines sont essuyées, lavées pendant 1 sec, 5 sec ou 20 sec. Il est toutefois impossible de distinguer dans ces expériences, où s'arrête le lavage et où commence l'exsorption proprement dite.

Il convient de citer ici une remarque de Woolley (1959) ; d'après ce chercheur, la couche de liquide d'absorption, adhérente à la surface des racines, serait en partie statique ; son remplacement par le milieu de lavage s'effectuerait en partie par diffusion, phénomène relativement lent.

La méthode au dinitrophénol employée par Butler est peu recommandable puisque ce toxique modifie probablement les propriétés semi-perméables des membranes de diffusion (chapitre XV) et peut, de ce fait, modifier les valeurs de l'e.l. primaire.

Jacobson et coll. ont obtenu des valeurs plus élevées pour des racines excisées que pour des racines liées à la plante. Chez les premières, en concluent-ils, l'e.l. comprendrait des régions du cylindre central, mais les racines liées aux tiges ne sont pas dans ce cas, à cause de l'imperméabilité de l'endoderme. Il est toutefois exclu que les ions pénètrent dans l'e.l. du cylindre central à travers la surface coupée : leurs résultats montrent que l'absorption du phosphate est pratiquement arrêtée au bout de 5 mn, tandis que les racines ont plusieurs centimètres de longueur. Des expériences complémentaires sont nécessaires pour vérifier ce point, qui au premier abord indique une variation de la grandeur de l'e.l., selon que les racines sont excisées ou non.

A ce propos, Helder (1958) rapporte qu'en général, l'exsorption dans différents milieux est plus intense pour des racines excisées que pour des racines attachées aux tiges.

J'en'ai pas toutefois observé de différence significative entre les $Rb_{(exs\ RbCl)}$ des racines excisées et ceux des racines liées à la plante pendant l'absorption, mais excisées pour l'exsorption (figure 26 et 27).

En résumé, bien que la plupart des résultats rapportés peuvent plus ou moins être conciliés avec la limite théorique que nous avons assignée à l'e.l. primaire, plusieurs points restent encore à élucider : la localisation de l'e.l. primaire n'a pas été encore établie d'une manière directe, sa grandeur n'est connue que très approximativement, et, enfin, on ignore dans quelle mesure elle peut varier avec les conditions expérimentales, insuffisance de technique mise à part.

b - Exsorption d'origine différente de l'e.l. primaire

La variation observée de la grandeur apparente de l'e.l. (calculé à partir des $Rb_{(exs\ eAu)}$), avec la concentration d'absorption, et la valeur supérieure

à 100 % dans certains cas, (tableau IV) indiquent clairement une exsorption non seulement de l'e.l. primaire, mais d'autres régions également.

Une exsorption dans l'eau, trop élevée pour être attribuée uniquement à l'e.l. primaire, est rapportée par Epstein (1955, racines d'Orge excisées, ion SO_4^{--}), Helder (1958, racines d'Orge non excisées, ion Rb^+), Middleton et Russel (1958, tranches de Betterave ion Rb^+), Woolley (1959, racines excisées de Maïs et de Concombre, ions K^+ et Rb^+), Lundegårdh (1959, racines excisées d'Orge, ions NO_3^- et Cl^-). Ce type d'exsorption n'est pas toutefois la règle : il n'a pas été observé pour l'ion Ca^{++} (Epstein 1955), pour l'ion phosphorique (Epstein 1955, Mlle Bensimon 1960), et pour les ions halogènes Br^- et I^- (Briggs et coll. 1958). Il est surtout fréquent dans les études réalisées avec des ions alcalins. La plupart des chercheurs qui l'ont observé l'attribuent à une rétention labile d'ions par des liaisons facilement hydrolisables. Peu de travaux étudient cependant ce phénomène de plus près. Jacobson et coll. (1958) ont constaté une augmentation des quantités de K ou de Na exsorables dans l'eau au cours de la première heure d'absorption préalable ; ils observent également une variation du rapport "masses exsorbées/concentration extérieure", en sens inverse de celle de la concentration d'absorption, résultats semblables aux miens. Selon ces chercheurs, l'exsorption reflète une absorption *réversible* et, de ce fait montre qu'elle est non-métabolique. Cette conclusion est sujette à quelques réserves puisque, nous l'avons vu, l'absorption réversible n'est pas forcément le synonyme de l'absorption passive.

Lundegårdh (1959) attribue les masses exsorbées à une dissociation ion-vecteur.

Mes résultats relatifs à l'influence du rapport "volume d'eau/poids des racines" sur les masses exsorbées (tableau II) m'ont suggéré l'existence de sites d'absorption réversible. L'accroissement de ces masses avec la température d'absorption indique une participation du métabolisme dans l'absorption du Rb exsorbable (tableau V), tandis que leur variation, lorsqu'on transfère les racines au cours de l'absorption d'une température à une autre, suggère qu'une partie au moins des sites d'absorption est située dans le cytoplasme. D'autre part, diverses considérations nous ont conduite à localiser la barrière principale de diffusion dans la pellicule ectoplasmique. On peut donc, en première approximation, situer ces sites, en partie au moins, dans cette pellicule, et les autres éventuellement, dans les parois.

D'autres travaux appuient l'hypothèse d'une rétention réversible d'ions dans la pellicule et apportent quelques précisions complémentaires sur ce type d'exsorption. Helder (1958) étudie l'exsorption du Rb dans l'eau par des plantules d'Orge, après absorption préalable dans une solution de RbNO_3 . Les masses exsorbées varient selon que le milieu d'absorption contient ou non un peu de Ca (0,5 mM/l). Lorsque cet ion est présent dans le milieu d'absorption, les quantités ultérieurement exsorbées sont très faibles ; en son absence elles sont significatives. Ces résultats indiquent qu'il suffit de modifier un peu le milieu d'absorption pour induire des variations importantes sur l'exsorption ultérieure. D'autre part, les expériences classiques d'Osterhout (1911, 1912), démontrent une action très différente des ions alcalins et du Ca^{++} , sur les propriétés des membranes cytoplasmiques. Les résultats de Helder et d'Osterhout, suggèrent un rapport étroit entre l'exsorption dans l'eau, d'origine différente de l'e.l. primaire, et les modifications apportées par le milieu d'absorption aux membranes cytoplasmiques. On peut, en effet, supposer que le milieu d'absorption les rend plus ou moins aptes à une rétention réversible d'ions.

A la suite de ces considérations, nous avancerons l'hypothèse suivante, quant à l'exsorption dans l'eau, d'ions d'origine différente de l'e.l. primaire : ces ions seraient en partie au moins absorbés dans la pellicule ectoplasmique. Les caractéristiques de cette absorption (quantités, durée etc.) seraient en rapport étroit avec tous les facteurs qui agissent sur les propriétés de ces membranes au cours de l'absorption.

III - L'EXSORPTION DANS DES SOLUTIONS SALINES

Selon la conception la plus couramment admise, l'exsorption dans une solution saline consisterait en une sortie d'ions de l'e.l. primaire et en échanges des cations de l'extérieur contre ceux retenus sur des sites d'échange dans l'e.l. secondaire. Les forces de rétention de ces ions seraient celles de Coulomb, et les échanges suivraient la distribution de Donnan. Le pouvoir d'échange des différents ions serait déterminé, entre autres facteurs, par leur valence ou, plus correctement, par leur position dans la série lyotropique (Epstein 1956, Briggs et Robertson 1957, Sutcliffe 1957, Laties 1959).

Plusieurs travaux nous incitent, en effet, à penser que dans plusieurs cas, mais non dans tous, nous le verrons, les échanges sont relativement peu sélectifs, ce qui est plus ou moins en accord avec cette conception (Epstein et Leggett 1954, Sutcliffe 1957, Middleton et Russel 1958, Tagava et Bonner 1957 etc.).

Il existe trop peu d'études quantitatives pour nous permettre de déterminer le degré de spécificité de ces échanges, c'est-à-dire, dans quelle mesure le pouvoir d'échange d'un ion, les autres conditions restant semblables, est déterminé uniquement par sa position dans la série lyotropique. De telles études exigent, comme l'ont remarqué Briggs et Robertson (1957), Briggs et coll. (1958), de faire occuper au préalable, c'est-à-dire avant l'exsorption, tous les sites d'échange par des ions de la même espèce, précaution rarement prise par les chercheurs. Dans un travail récent de Briggs et coll. (1958), où précisément cette condition a été remplie, les échanges pour différentes concentrations suivaient de très près la distribution de Donnan. Les calculs de ces chercheurs portaient toutefois sur les concentrations ioniques et non sur les activités, comme le requiert la relation de Donnan. Vu la variation des coefficients d'activité ionique avec la concentration, et la distance entre ions et les sites d'échange, il est probable que des écarts plus accusés de la relation de Donnan auraient été constatés, si leurs calculs avaient porté sur les activités. Quoiqu'il en soit, les travaux cités ci-dessus indiquent indubitablement l'existence d'échanges peu sélectifs.

Dans le chapitre précédent, nous nous sommes prononcée en faveur d'une pellicule ectoplasmique peu perméable aux ions à l'état libre ; cela limiterait la localisation des sites d'échange soit dans les parois, soit dans la pellicule elle-même, soit dans les deux régions. Plusieurs travaux attestent une capacité d'échange importante des parois cellulaires (Keller et Deuel 1957, Chasson et Levitt 1957, Jansen et coll. 1960). Il nous paraît, par conséquent, légitime de localiser une partie au moins de ces sites dans les parois.

Nos résultats relatifs à l'exsorption dans des solutions salines concordent mal avec la conception présentée ci-dessus. Nous avons, en effet, constaté, à 1°-2°, une exsorption du Rb identique dans de l'eau et dans une solution de CaCl_2 , mais plus élevée dans une solution de RbCl (tableau I).

Dans le cas où, comme nous le pensons, l'exsorption reflète une absorption réversible, ces résultats attestent une sélectivité des échanges.

De plus, l'augmentation des $Rb_{(exs\ RbCl)}$ avec la température d'absorption (tableau V) et la fixation d'une partie de la différence $Rb_{(exs\ RbCl - exs\ eau)}$ au cours d'un séjour des racines dans l'eau (après absorption préalable) avant leur transfert dans une solution de $RbCl$ (figure 15 et 16), nous ont conduit à postuler l'origine cytoplasmique d'une partie au moins du Rb échangeable.

Ces résultats peuvent être conciliés à l'hypothèse couramment admise, en supposant au moins deux systèmes d'échanges dans les plantes, l'un localisé dans les parois, l'autre dans la pellicule cytoplasmique. Le premier système serait plus ou moins fixe et peu sélectif, le deuxième serait en étroit rapport avec l'influence du milieu d'absorption sur les propriétés de ces membranes. Dans nos expériences, la contribution du premier système aux échanges serait très faible comparé au deuxième.

Un autre type d'exsorption d'origine cytoplasmique, distinct des échanges, mais en étroit rapport avec l'influence du milieu d'exsorption sur les membranes cytoplasmiques est rapporté par Helder (1958). Ce chercheur constate une influence de l'anion et aussi du cation de la solution d'exsorption sur les quantités de Rb exsorbées par des racines d'Orge liées à la plante, à 20° ; dans certains cas, les ions exsorbés ne sont pas tous remplacés par ceux de l'extérieur. Ces résultats peuvent être interprétés ainsi : lorsqu'on transfère le système étudié d'un milieu à un autre de composition différente, il peut se produire au cours de la réadaptation des membranes cytoplasmiques au nouveau milieu, une sortie rapide d'ions irréversiblement absorbés.

Ces considérations suggèrent en première approximation cinq mécanismes différents, pour rendre compte de l'exsorption dans une solution saline :

- 1/ diffusion à partir de l'e.l. primaire ;
- 2/ mécanisme par lequel s'effectue l'exsorption dans l'eau, d'origine différente de l'e.l. primaire, dans la mesure où cette exsorption reflète une absorption réversible ;
- 3/ échanges peu sélectifs localisés dans les parois ;
- 4/ échanges sélectifs localisés dans la pellicule ectoplasmique ;
- 5/ sortie d'ions au cours de la réadaptation des pellicules ectoplasmiques au milieu d'exsorption.

CHAPITRE XII

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR L'ABSORPTION

Les Q_{10} des vitesses d'absorption sont très fréquemment égaux ou supérieurs à 2, indice d'une intervention métabolique dans l'absorption. Plusieurs travaux et nos expériences personnelles attestent toutefois des relations complexes entre la température et l'absorption, dont quelques-unes feront l'objet de la discussion ci-dessous.

I - INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR L'ABSORPTION EN FONCTION DU TEMPS

L'absorption du Rb en fonction du temps, par des racines excisées d'Orge, suit dans nos essais, pour l'intervalle de température 5° - 25° , la relation :

$$Rb_t = Rb_{\infty} (1 - e^{-kt})$$

(Rb_t = Rb absorbé pendant le temps t ; Rb_{∞} = quantité théorique maximale qui peut être absorbée par les racines au cours du temps ; k = constante de vitesse). La vitesse d'absorption est donnée par :

$$\frac{dRb_t}{dt} = k (Rb_{\infty} - Rb_t)$$

La valeur de k augmente avec la température ; c'est aussi le cas de Rb_{∞} mais son accroissement est relativement faible (tableau XI).

Ces constatations expliquent la diminution constatée des Q_{10} des vitesses moyennes d'absorption avec le temps (tableau XII) : au début de l'absorption la vitesse augmente avec la température, mais étant donné qu'elle est inversement proportionnelle à Rb_{∞} et que Rb_{∞} varie peu elle diminue plus rapidement à température élevée, d'où la diminution des Q_{10} avec le temps.

Il nous est difficile d'avancer une hypothèse précise pour expliquer l'augmentation, légère il est vrai mais nette, des Rb_{∞} avec la température, mais n'oublions pas que Rb_{∞} est une grandeur théorique calculée à partir d'expériences de courte durée. Hoagland et Broyer (1936) ont étudié, dans des expériences plus longues, l'influence de la température et du temps sur l'absorption du K par des racines excisées. Pendant les 10 premières heures les masses brutes absorbées croissent avec la température, mais après 24 heures, l'absorption brute à 18° est légèrement supérieure à celle se produisant à 30° ; à cette dernière température il se manifeste cependant au bout d'un certain temps une perte sensible de K. Il n'y a pas de doute que des modifications métaboliques se produisent dans les racines qui ont séjourné plusieurs heures à 30° , de sorte qu'elles ne sont plus comparables à celles qui absorbent à 18° .

De telles modifications doivent d'ailleurs être prises en considération lorsque deux systèmes, à peu près identiques à l'origine, séjournent pendant un temps plus ou moins long dans des conditions différentes. Selon le mot de Van den Honert et coll. (1955) "les plantes peuvent changer d'avis" (change their mind).

Citons encore les résultats de Sutcliffe (1954 b) qui attestent, eux aussi, une baisse des Q_{10} des vitesses avec le temps pour l'absorption du K par des tranches de Betterave.

Un type différent de variation des Q_{10} en fonction du temps a été observé dans mes essais effectués respectivement à 0° et 5°. On a vu que dans cet intervalle de température les Q_{10} des vitesses d'absorption augmentent considérablement après les deux premières heures d'absorption. Ces résultats se rapprochent de ceux de Laties (1958) : lorsque des tranches de Pomme de terre sont prétraitées à 0°, avant d'être mises à absorber à cette même température, l'absorption -non échangeable- en fonction du temps se produit à vitesse constante dès le début. Par contre dans des tissus prétraités à 30° puis mis à absorber à 0°, la vitesse d'absorption est initialement plus rapide puis diminue progressivement en fonction du temps pour devenir au bout d'une heure égale à celle des tissus prétraités à 0°. Par conséquent dans ces essais aussi, les Q_{10} entre 0° et des températures plus élevées, augmentent en fonction du temps. Selon Laties, un vecteur formé à température élevée opère dans les racines transférées à 0°, mais s'épuise progressivement. Dans le paragraphe suivant nous avancerons d'autres hypothèses pour expliquer les Q_{10} élevés obtenus dans certains de nos essais.

II - VARIATION DES Q_{10} AVEC L'INTERVALLE DE TEMPERATURE

Les Q_{10} des vitesses moyennes d'absorption ou des constantes k dépendent de l'intervalle de température considéré et, dans certains cas, notamment aux basses températures, ils ont des valeurs voisines ou supérieures à 3 (tableaux IX et X).

D'autres travaux rapportent des Q_{10} élevés : Van den Honert et Hooymans (1955) ont obtenu une valeur égale à 7 pour le Q_{10} de la vitesse d'absorption entre 5° et 10°. Butler (1953) et Kramer et Wiebe (1952) donnent des valeurs égales, respectivement, à environ 8 et 4.

Or, le Q_{10} des vitesses des réactions enzymatiques simples est souvent voisin de 2. Van den Honert et Hooymans expliquent la valeur élevée du Q_{10} obtenue entre 5° et 10°, par l'action de la température sur la perméabilité des membranes cytoplasmiques. Ils comparent celles-ci à certains lipides complexes, chez lesquels les Q_{10} de fusion sont très élevés aux températures voisines de celles où leur fusion est complète.

Dans cet esprit, cela signifierait que l'absorption est liée à l'état physique des membranes et probablement à celui de tout le cytoplasme, donc à un des aspects de la structure de ce dernier.

Il est aussi possible que les plantes, à basse température, "changent effectivement d'avis" et que les réactions qui ont lieu à deux températures différentes ne varient pas seulement quantitativement, mais aussi qualitativement. Dans ce cas, les Q_{10} observés auraient peu de signification réelle.

CHAPITRE XIII

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION SUR L'ABSORPTION

Les études d'absorption en fonction de la concentration visent principalement à obtenir, par le moyen d'une analyse cinétique des résultats, des indications sur le mécanisme d'absorption. Le principe de cette analyse est le suivant : on compare la cinétique d'absorption à celle des différentes réactions connues, réactions enzymatiques, réactions d'adsorption, et d'après les ressemblances, on déduit les mécanismes impliqués dans le processus d'absorption.

Rosenberg et Wilbrant (1955) ont abordé le problème différemment : ils ont construit des modèles d'absorption et à partir d'eux ils ont élaboré des équations d'absorption en fonction de la concentration.

Un des premiers chercheurs à appliquer des méthodes d'analyse cinétique à ses résultats a été Van den Honert (1933). Il a montré que l'absorption du phosphate minéral, en fonction de la concentration, par la Canne à sucre, est conforme à l'équation de Freundlich, d'où il a conclu que la première réaction d'absorption consiste en une adsorption de l'ion sur un vecteur.

La relation Freundlich est, rappelons-le, une relation empirique originellement conçue pour exprimer les rapports entre la pression d'un gaz et son adsorption sur un adsorbant. Elle se traduit par l'équation :

$$q = kp^{\frac{1}{n}} \text{ ou } \log q = \log k + \frac{1}{n} \log p$$

(q = quantité absorbée ; p = pression ; k et n = constantes, $n > 1$).

Elle s'applique généralement à des adsorbants impurs. N'ayant aucune base théorique, cette relation manque par cela même de précision. De plus elle ne pourrait être généralisée puisque, dans la plupart des cas, elle est valable seulement pour une gamme de concentrations limitée (Helder 1952, Becking 1956).

Plusieurs chercheurs ont récemment rapporté des relations entre l'absorption et la concentration identiques à celles observées pour des réactions enzymatiques simples. La cinétique d'absorption serait semblable à celle de Michaelis-Menten, soit pour une seule réaction (Epstein et Hagen 1952, 1954, Epstein et Leggett 1954, Leggett et Epstein 1956, Bange 1959 pour l'ion Na^+), soit pour deux réactions qui utilisent simultanément le même substrat (Hagen et Hopkins 1955, Fried et Noggle 1957, Fried et coll. 1958, Bange 1959 pour l'ion K^+).

Les méthodes d'analyse employées par ces chercheurs ont été brièvement exposées au début du chapitre VII. En les appliquant à mes résultats,

J'ai constaté que les graphiques de $M_0^* = f\left(\frac{M_0^*}{[M_0^*]}\right)$ (M_0^* = quantité de cations M^+ absorbée ; $[M_0^*]$ = concentration de M^+ à l'extérieur) ont une forme hyperbolique, indice d'une absorption régie par deux réactions, mais que les valeurs des constantes dépendent des points choisis sur la courbe pour les évaluer. Ces résultats nous ont conduite à rejeter telle quelle l'hypothèse de deux réactions. L'analyse de la courbe d'absorption du phosphate en fonction de la concentration, obtenue par Mlle Bensimon (1960), nous a amenée à des conclusions identiques.

Les divergences entre les résultats des différents chercheurs et ceux présentés dans ce mémoire, et les différences d'interprétation qui en résultent, tiennent probablement, en partie du moins, aux gammes de concentrations par trop restreintes employées dans leurs travaux. Par exemple, Epstein et Hagen (1952) ont travaillé avec des concentrations en Rb relativement élevées (concentration minimale 1 à 2 mM/l), tandis que Bange (1959) s'est limité aux concentrations faibles (concentration maximale 1 à 2 mM/l de Na ou K). Dans quelques-unes de ces études, il est vrai, les courbes d'absorption en fonction de la concentration semblent avoir atteint leur asymptote horizontale, justifiant au premier abord les concentrations maxima relativement faibles employées par certains chercheurs (par exemple Bange), mais cette asymptote pourrait, on l'a vu (figure 37), ne pas être définitive, et l'absorption augmenterait de nouveau en fonction de la concentration lorsqu'on élève suffisamment cette dernière.

En résumé, aucune des cinétiques proposées ne semble satisfaisante. Cela s'explique d'ailleurs : ces cinétiques sont trop simples par rapport à la complexité de structure et à la multiplicité des réactions dans un organe ou tissu. Même dans le cas où l'absorption comprendrait une ou deux réactions semblables aux réactions enzymatiques simples, le seul fait de la séparation spatiale des différentes étapes de ces réactions (association ion-vecteur au côté externe de la cellule, dissociation au côté interne) compliquerait déjà sa cinétique.

En réalité, les travaux ci-dessous le montreront, les relations absorption-concentration sont beaucoup plus complexes.

Helder (1952) a suivi l'absorption du phosphate par des plantules de Maïs : l'addition de glucose dans le milieu d'absorption, la présence ou l'absence de lumière, la teneur des plantes en phosphate, favorisent, suivant le cas, l'absorption dans une gamme de concentrations, mais pas dans une autre, autrement dit le passage d'une condition expérimentale à une autre affecte différemment l'absorption à différentes concentrations. Alberda (1948) constate également des variations dans les relations absorption-concentration, selon la teneur des plantes en l'ion étudié. Dans les études de Steward et Millar (1954) sur des cultures de tissus, les rapports de l'absorption à la concentration sont très différents pour des cultures en état de croissance ou au repos. Kahn et Hanson (1957) trouvent des relations type Michaelis-Menten pour l'absorption en fonction de la concentration par des segments des racines de Maïs, mais les valeurs des constantes V (vitesse maximale) et K_m (constante de Michaelis) dépendent de la distance des segments à l'apex des racines. D'après Olsen (1950), l'influence de la concentration de l'ion étudié sur l'absorption dépendrait des rapports de la concentration en cet ion à celle des autres ions présents. Overstreet et coll. (1952) constatent que l'influence du Ca sur l'absorption du K dépend de la concentration en ce dernier ion.

Citons enfin les travaux de Haogland et coll. (1928) et de Helder (1957 b). Le premier montre une influence de l'ion de signe contraire sur l'absorption de l'ion étudié, la deuxième met en évidence des effets complexes du prétraitement dans divers milieux (eau, solution saline), sur l'absorption ultérieure.

Les relations absorption-concentration varient, on le voit, avec l'état physiologique du système (facteurs internes) et la composition du milieu ambiant (facteurs externes).

L'analyse des courbes obtenues dans nos expériences sur l'effet de la concentration, nous a suggéré l'existence de plusieurs réactions ayant une cinétique plus ou moins voisine de celle de Michaelis-Menten mais dont les constantes varieraient entre elles. Cette hypothèse pourrait expliquer les résultats de Helder, de Steward et Millar et de Kahn et Hanson : la contribution de chacune de ces réactions à l'absorption totale varierait selon l'état physiologique du système étudié. Si l'on suppose de plus, que le milieu extérieur influe d'une manière ou d'une autre sur ces réactions, cette hypothèse pourrait également rendre compte :

- de la forme ondulée de quelques unes de nos courbes expérimentales (figures 36 et 37), pour des concentrations intermédiaires : certaines de ces réactions sont stimulées à ces concentrations ;

- des variations que l'on constate des relations entre l'absorption et la concentration en présence d'autres ions dans le milieu extérieur (résultats de Hoagland et d'Overstreet et coll.).

Nous ne sommes pas toutefois en mesure de nous prononcer sur la nature de ces réactions, ni même de dire s'il s'agit de plusieurs réactions d'entrée des ions dans la cellule, - dans le contexte de l'hypothèse des vecteurs cela impliquerait l'existence de plusieurs vecteurs - ou s'il s'agit d'un équilibre complexe entre une réaction d'entrée unique (ou tout au plus un petit nombre de réactions d'entrée) et des réactions secondaires qui dans la cellule font suite à cette première réaction.

Quoiqu'il en soit, le point essentiel qui se dégage de cette discussion est la dépendance des relations absorption-concentration de toute une constellation de facteurs opérant sur le système absorbant. Il suffit de varier un de ces facteurs pour entraîner des modifications qualitatives de ces relations. Ces variations, nous semble-t-il, tiennent au fait que les divers événements qui se produisent dans la cellule (ou dans les tissus ou organes) loin d'être indépendants les uns des autres s'influencent mutuellement. Il en résulte une sorte d'ordre dynamique extrêmement complexe qui règle l'activité globale de ces systèmes. Les mécanismes de régulation échappent encore à notre analyse, sauf pour quelques réactions individuelles (Cohn et Monod 1953, Horowitz et coll. 1960). Chaque nouveau facteur qui agit sur le système rompt l'ordre établi et le nouvel ordre modifie et détermine l'expression du ou des mécanismes d'absorption. D'où les variations, difficilement analysables, des relations de l'absorption à la concentration avec divers facteurs.

En raison de ces considérations, la valeur des méthodes de la cinétique enzymatique pour l'élucidation du mécanisme d'absorption nous paraît douteuse, surtout lorsque ces méthodes sont appliquées à des organes aussi hétérogènes que les racines.

CHAPITRE XIV

L'INTERACTION DES IONS ALCALINS

(Na⁺, K⁺, Rb⁺)

La sélectivité manifestée par diverses plantes dans l'absorption des ions alcalins Na⁺, K⁺ ou Rb⁺ comporte des aspects forts complexes. D'après la plupart des travaux les plantes distingueraient le Na du K ou Rb (Collander 1941, Epstein et Hagen 1952, Bange 1959) mais elles confondraient ces deux derniers ions, surtout dans des expériences de courte durée⁽¹⁾. Or, ces trois ions appartiennent à la même famille chimique, celle des ions alcalins, et les deux questions suivantes se posent :

1/ Quel est le mécanisme de sélectivité de l'absorption du Na d'une part, du Rb ou du K de l'autre ?

2/ Quel est le rapport entre la sélectivité et la structure de ces ions ?

Nos connaissances du mécanisme d'absorption sont insuffisantes pour traiter la deuxième question. Cependant si comme le suggèrent plusieurs chercheurs (Russel 1954, Osterhout 1957), les liaisons entre ions et éventuels vecteurs s'avèrent des liaisons de chélation, le problème pourrait être abordé à la lumière des découvertes récentes sur la structure des agents chélateurs.

En ce qui concerne la première question, il existe presque autant de points de vues que de travaux. Les hypothèses les plus significatives sont les suivantes :

1/ L'absorption du Na et du Rb (ou K) est régie par des vecteurs différents. L'absorption de l'un n'est pas influencée par la présence de l'autre. Ce point de vue est avancé par Fried et coll. (1958). Ces chercheurs constatent une absorption égale du Rb par des racines d'Orge en présence comme en absence de Na dans le milieu extérieur.

2/ Le Rb et le Na sont absorbés par des vecteurs différents, mais à des concentrations élevées de l'un ou de l'autre ion, il se manifeste une inhibition non compétitive. C'est la conclusion d'Epstein et Hagen (1952). Ces chercheurs ont étudié l'influence de diverses concentrations de Na sur l'absorption de Rb par des racines d'Orge, en fonction de la concentration en RbCl : pour des concentrations de Rb ou Na inférieures à 10 mM/l, le Na n'a aucune action sur l'absorption du Rb ; à des concentrations plus élevées, il se manifeste une inhibition qu'ils qualifient d'après les courbes $\frac{1}{Rb_a} = f\left(\frac{1}{[Rb_a^+]}\right)$ de non compétitive (Rb_a = Rb absorbé, $[Rb_a^+]$ = concentration de Rb à l'extérieur).

(1) Scott et de Voe (1957), Helder (1957 b, 1958) signalent cependant quelques différences de comportement des plantes vis à vis du K et du Rb même pour des expériences de courte durée.

3/ L'absorption du K est régie par deux vecteurs dont l'un est spécifique à cet ion et le Na n'a sur lui aucune action, tandis que l'autre sert à la fois à l'absorption du K et du Na. Le Na est accumulé par l'intermédiaire de ce vecteur seulement. L'inhibition exercée par l'un de ces ions, sur l'absorption de l'autre, par le vecteur commun, est compétitive ce point de vue est soutenu par Bange (1959) à la suite d'expériences réalisées sur des plantules entières de Maïs. Ses conclusions découlent de l'analyse cinétique des résultats.

4/ Le Na et le K sont absorbés par le même mécanisme. En l'absence de l'ion interférant, le Na ou le K sont absorbés à peu près à quantités égales ; en présence des deux ions le mécanisme "préfère" du Na.

Ce concept de préférence a été introduit par Sutcliffe (1957) pour expliquer l'absorption du Na et du K par des tranches de Betterave. Ce chercheur constate une absorption équivalente de Na ou de K pour une concentration équimolaire de l'un ou de l'autre ion. En présence de concentrations équimolaires des deux ions (concentration totale 20 mM/l), les tissus absorbent plus de Na, mais les quantités totales de Na + K absorbées sont égales à celles accumulées dans une solution contenant 20 mM/l de l'un ou de l'autre ion.

5/ Le mécanisme d'absorption consiste en plusieurs réactions dont les unes sont affectées par la présence de l'ion interférant tandis que les autres ne le sont pas. Une *inhibition* du type non compétitif peut rendre compte de la plupart des résultats, mais des réserves sont émises quant à l'identification du mécanisme d'interaction à un type d'inhibition bien défini.

Ce sont, comme on s'en souviendra mes conclusions personnelles. Elles découlent d'une part de l'impossibilité d'identifier la cinétique d'absorption d'un seul ion à une cinétique connue, et de l'autre des résultats suivants :

- le Na inhibe l'absorption du Rb ou K, le K celle du Na ;
- l'inhibition augmente avec la concentration en l'ion interférant, mais varie en sens inverse de celle de l'ion étudié au principal ;
- les courbes d'absorption en fonction de la concentration de l'ion étudié au principal, en présence et en absence d'une concentration donnée de l'ion interférant, deviennent sensiblement parallèles pour des concentrations élevées du premier ion.

Les divergences exposées proviennent d'une différence des résultats d'où les désaccords dans l'interprétation. Ces différences tiennent en partie aux divers systèmes et espèces étudiés car, comme j'ai pu le constater dans des expériences préliminaires sur l'interaction Na-K, le type d'interaction varie d'une espèce à l'autre. Elles tiennent aussi sans doute à l'état physiologique du système étudié. Voici un exemple, très révélateur. Sutcliffe a élaboré son concept de "préférence" à partir de résultats publiés en 1957, Des résultats différents ayant été obtenus en 1954 (conditions expérimentales identiques, sauf que les Betteraves provenaient d'une récolte différente) Sutcliffe avait alors conclu que le Na et le K se disputaient à "termes égaux" (equal terms) le mécanisme d'absorption.

De plus, ses résultats (1957) montrent que la température d'absorption, ou le prétraitement des tranches de Betterave modifie les rapports du Na ou K absorbés d'une solution équimolaire en ces deux ions. Certains de ses résultats suggèrent, en outre, que les interactions d'ions de la même famille

chimique n'impliquent pas nécessairement des inhibitions, mais qu'elles peuvent également induire des stimulations.

Il ressort de ce qui vient d'être cité, et ce sont là nos conclusions, que :

- les aspects quantitatifs et qualitatifs de l'interaction varient avec le système étudié ou avec son état physiologique ;

- les conclusions que l'on tire d'analyses cinétiques obtenues dans certaines conditions expérimentales, ne peuvent pas être généralisées et de ce fait perdent beaucoup de leur valeur.

CHAPITRE XV

INFLUENCE DES INHIBITEURS SUR L'ABSORPTION, SUR LA RESPIRATION ET SUR L'EXSORPTION

Introduction

Dans le présent chapitre, je sortirai souvent du cadre de mes travaux personnels pour aborder des problèmes plus généraux concernant l'action des inhibiteurs sur l'absorption et la respiration, bien que cette dernière n'ait pas fait l'objet de recherches particulières dans ce mémoire. En effet, l'emploi d'inhibiteurs du métabolisme oxydatif dans les études d'absorption a précisément pour but d'élucider les relations entre ces deux processus. Il serait donc de faible intérêt de discuter l'influence des toxiques sur l'accumulation sans discuter celle qu'ils ont sur la respiration.

Au cours de la réalisation de ce travail, j'avais eu l'intention d'étudier l'action simultanée des inhibiteurs sur l'absorption et la respiration et, dans ce but, quelques expériences avec l'oxyde de carbone ont été réalisées en collaboration avec M. G. Ducet (1959). Mais pour des raisons qui deviendront évidentes dans cette discussion, je me suis rendu compte de la phase critique où se trouvait l'étude des relations entre ces deux phénomènes par les méthodes classiques. Il aurait fallu avoir recours à des méthodes nouvelles. Or, une pareille étude m'aurait écartée des limites du présent travail et le projet en a été abandonné.

I - EMPLOI DES INHIBITEURS DANS LES EXPERIENCES D'ABSORPTION

La plupart des expériences relatives à ces recherches sont fondées sur le principe suivant : on traite le système étudié avec des inhibiteurs dont le mode d'action sur une réaction déterminée du métabolisme oxydatif est supposé connu, et d'après le degré d'inhibition de l'absorption d'une part et de la respiration de l'autre, on en déduit la relation entre le mécanisme d'absorption et la voie métabolique à laquelle la réaction en question appartient.

Certains chercheurs comme Hopkins (1956), Hagen et coll. (1957) sont même allés plus loin. Ils étudient l'influence des inhibiteurs sur l'absorption d'un ion en fonction de la concentration de ce dernier, puis analysent leurs résultats, comme on le fait ordinairement pour des inhibitions rencontrées dans des réactions enzymatiques.

Ces méthodes d'investigation auraient été fructueuses si :

- 1/ la cinétique d'absorption en fonction de la concentration était reconnue conforme à celle des réactions enzymatiques ;
- 2/ le mode d'action de l'inhibiteur sur elle était établi ou du moins si les limites de nos connaissances sur ce point étaient précisées.

Or le degré de réalisation de ces conditions est rarement soumis à un contrôle rigoureux : l'interprétation des résultats risque, par conséquent, d'aboutir à des conclusions erronées ou insuffisamment étayées.

L'erreur la plus fréquente dans l'interprétation des résultats, provient surtout de ce qu'il n'a pas été tenu compte de tous les effets susceptibles d'être exercés par les toxiques sur le système étudié, soit qu'on étende à des systèmes *in vivo* des résultats obtenus dans des expériences *in vitro* sur des extraits subcellulaires sans s'assurer de l'identité des effets, soit qu'on néglige la non-spécificité fréquente des inhibiteurs ou les modifications secondaires produites par ceux-ci, susceptibles à leur tour d'influencer l'absorption, etc. Des exemples seront donnés dans la discussion suivante relative à l'action du CO et du CN sur l'absorption et la respiration. De plus nos expériences ont montré que :

1/ outre leurs effets sur l'absorption, les inhibiteurs peuvent stimuler l'exsorption ;

2/ l'action des toxiques croît avec le temps : l'effet des inhibiteurs sur l'absorption ou l'exsorption n'atteint pas son maximum d'efficacité dès le début de l'expérience.

Faute de tenir compte de tous ces facteurs, et cela est souvent le cas, l'interprétation des résultats est sujette à des erreurs.

II - EFFETS DES INHIBITEURS SUR L'ABSORPTION ET SUR LA RESPIRATION

Effets du CO et du CN⁻

Ces toxiques inactivent indubitablement la cytochrome oxydase *in vitro* (Keilin et Hartree 1939, Stannard et Horecker 1948, Warburg 1949). Le CO et le CN⁻ inhibent également d'autres oxydases ; les caractères suivants permettent cependant de distinguer leur action sur la cytochrome oxydase de celle qu'ils ont sur les autres enzymes : l'action du CO sur la cytochrome oxydase est réversible à la lumière et des concentrations relativement faibles de CN⁻ (1 mM/l) sont suffisantes pour inactiver l'enzyme. D'autre part, le CO et le CN⁻ inhibent l'absorption. Partant de ces faits, plusieurs chercheurs et en premier lieu Lundegårdh (1945, 1951) ont identifié la fraction de la respiration des organes ou tissus *intacts*, sensible au CO (action réversible à la lumière) et au CN⁻ (faibles concentrations) à celle régie par les cytochromes, et ont considéré que l'absorption minérale dépend de cette fraction. En outre la respiration de certains tissus n'étant pas sensible à ces toxiques, divers chercheurs comme James (1953), Russel (1954), postulent l'intervention d'autres oxydases terminales dans l'absorption.

Ces thèmes, pour des raisons exposées ci-dessous, simplifient trop, nous semble-t-il, les relations entre l'absorption et la respiration.

Le tableau XXX présente les résultats de différents travaux relatifs à l'action du CO et du CN⁻ sur l'absorption et la respiration, et le tableau XXXI les résultats concernant la présence d'un système actif de cytochrome oxydase dans des préparations mitochondriales d'organes ou tissus utilisés au cours des travaux cités dans le tableau XXXI. Trois faits importants émergent de ces deux tableaux :

1/ La respiration n'est pas toujours inhibée par le CO et le CN⁻ ; sui-

Tableau XXX

Travaux concernant l'action du CO et du CN sur l'absorption et sur la respiration de divers systèmes végétaux

Système étudié	Inhibiteur	Absorption	Respiration	Références
Racines de Blé	CO ou CN ⁻	inhibée	inhibée	Lundegårdh et Burström 1935
" "	CO ou CN ⁻	inhibée	inhibée	Sutter 1950
" "	CN ⁻		la sensibilité décroît avec la distance de l'apex	Eliason et Mathiesen 1956
Racines d'Orge (âge < 6 jours)	CO		inhibée	James 1957
" " (âge 6 jours)	CO	inhibée	inhibée	Ordin et Jacobson 1957
" " (âge > 6 jours)	CO		non inhibée	James 1957
" " "	CO	inhibée	non inhibée	Shéaltiel et Ducet 1959
" " (différents âges)	CO	inhibée	non inhibée	Lubell et Bonner 1958
" "	CN ⁻	inhibée		Machlis 1954
" "	CN ⁻	inhibée	inhibée	Milthorp et Robertson 1948
" "	CN ⁻	inhibée		Résultats personnels (tableau XIX)
Micorrhizes de Hêtre	CN ⁻	inhibée	légèrement stimulée	Harley et coll. 1953
Tranches de Pomme de terre	CO ou CN ⁻		sensibilité variable suivant la durée du pré-traitement dans l'eau	Hackett et Haas 1958
Tranches de Carotte, de Betterave ou de Pomme de terre	CO ou CN ⁻		sensibilité variable suivant la durée et la température du pré-traitement dans l'eau	McDonald 1959
Tranches de Carotte ou de Betterave				
1) dans H ₂ O	CN ⁻		non inhibée	Robertson et Turner 1945
2) dans solution saline	CN ⁻	inhibée	respiration des témoins stimulée par les sels, le CN ⁻ inhibe cette stimulation	Sutcliffe 1952
Tranches de Pomme de terre	CN ⁻	inhibée	inhibée	Lundegårdh 1958
Cultures de tissus de Carotte				
1) proliférant	CN ⁻	non inhibée		Steward et Millar 1954
2) en repos	CN ⁻	inhibée		
Feuilles diverses	CO		sensibilité variable suivant l'âge	Ducet et Rosenberg 1957
				McDonald et Dekock 1958
Scenedesmus	CN ⁻	inhibée	non inhibée	Osterlind 1951

Tableau XXXI

Travaux concernant la présence d'un système de cytochromes actif dans des préparations subcellulaires de divers systèmes végétaux

Système étudié	Présence du système de cytochromes	Référence
Racines de Blé	+	Brown et Goddard 1941
" "	+	Goddard 1944
" "	+	Martin et Morton 1956
" "	+	Miller et Evans 1956
" "	+	Ducet et coll. 1958 a
Racines d'Orge (âge < 6 jours)	+	James 1957
" " (âge > 6 jours)	activité très faible	James 1957
" "	+	Honda 1955
" "	+	Miller et Evans 1956
" "	+	Ducet et coll 1958 a et b
" "	+	Lubell et Bonner 1958
Racines de Hêtre	+	Rees 1958
Tranches de Betterave	+	Honda et coll. 1957
Tranches de Pomme de terre	+	Hackett et Haas 1958
Feuilles diverses	+	Ducet et Rosenberg 1957

vant le tissu, son âge et son prétraitement, elle peut être stimulée ou insensible.

2/ Les préparations mitochondriales de tous les tissus ou organes examinés, même ceux dont la respiration n'est pas diminuée par ces agents, contiennent un système de cytochrome capable d'effectuer des oxydations. (L'activité très faible de la cytochrome oxydase rapportée par James provient probablement d'une méthode d'extraction inadéquate (Ducet et coll. 1958 a et b).

3/ Le CO et le CN⁻ inhibent toujours l'absorption. (L'absence d'inhibition rapportée par Steward et Millar (1954) ne peut être acceptée sans réserves. Ces chercheurs ont étudié l'effet du KCN sur l'absorption du Cs par des cultures de tissus en croissance ou au repos. Le cyanure inhibait l'absorption par ces dernières seulement. Notons toutefois que le milieu extérieur auquel on ajoutait du CN⁻ et du Cs, était composé dans le cas de tissus proliférants, d'une solution nutritive complète, dans le cas des tissus en repos d'une solution de CaCl₂. Or, la solution complète contenait sans doute des sucres ; il n'est pas impossible, que dans cette solution, le cyanure s'inactivait en se combinant avec eux).

Ces faits amènent à considérer deux problèmes importants :

a) Le CO et le CN⁻ sont, sans aucun doute, des inhibiteurs de la cytochrome oxydase. Comment donc concilier l'insensibilité de la respiration de certains organes ou tissus à ces toxiques, ou même la stimulation de cette respiration, avec la présence d'une cytochrome oxydase active dans les préparations mitochondriales ?

b) Comment expliquer l'action différente du CN⁻ et du CO sur l'absorption et la respiration ?

En ce qui concerne le premier problème, deux hypothèses ont été avancées pour l'expliquer.

- *L'hypothèse de la cytochrome oxydase en excès.* Certains chercheurs (Ducet et Rosenberg 1957, Chance et Hackett 1959) suggèrent la présence d'un excès d'oxydase dans les tissus ou organes dont la respiration est insensible à ces inhibiteurs. En présence de ceux-ci, une quantité suffisante de l'oxydase reste libre pour assurer le fonctionnement normal de la chaîne respiratoire.

- *L'hypothèse d'une dérivation du transport d'électrons.* D'après Bendall et Hill (1956), Chance et Hackett (1959) la cytochrome oxydase serait inhibée par ces toxiques, mais le transport d'électrons serait dévié (probablement au niveau du cytochrome b) vers une autre voie.

Quant aux différents effets des inhibiteurs sur l'absorption et la respiration, il est nécessaire tout d'abord de définir d'abord ce qu'est la respiration. On la considère actuellement comme étant une oxydation de substrats (mesurée par l'absorption d'O₂) couplée absolument à des systèmes accepteurs de l'énergie d'oxydation. Le mécanisme de transfert de cette énergie est mal connu ; on sait cependant qu'un autre inhibiteur de la cytochrome oxydase, l'azoture, agit sur ce mécanisme en découplant l'oxydation du transfert d'énergie. Les récentes recherches de Hackett et Haas (1958) suggèrent la possibilité d'une action du CN⁻ semblable à celle de l'azoture. L'absorption minérale est un phénomène nécessitant de l'énergie. Cette énergie provient de la respiration telle qu'elle a été définie plus haut. Par conséquent, on ne doit pas écarter l'hypothèse d'une action du CO et du CN⁻ sur le transfert d'énergie (autre celle exercée sur la cytochrome oxydase) qui conduirait à une inhibition de l'absorption minérale.

Il est encore possible d'expliquer autrement l'action différente du CO et du CN⁻ sur l'absorption et la respiration. Ces toxiques, à part leur effet sur la respiration et ses conséquences sur l'absorption, agissent également sur un facteur inconnu indispensable à l'absorption.

En conclusion le CO et le CN⁻, on le voit, peuvent avoir sur des systèmes intacts des effets différents de ceux qu'ils ont sur la cytochrome oxydase *in vitro*. Ces effets sont encore mal définis, d'où la difficulté d'interprétation des résultats obtenus avec ces toxiques. Par ailleurs, il n'est pas nécessaire de faire intervenir d'autres oxydases terminales pour expliquer l'absorption par des systèmes dont la respiration est insensible au CO et au CN⁻.

Effets du dinitrophénol

L'action du DNP sur le métabolisme a été découverte pendant la première guerre mondiale par le groupe de chercheurs français : Magne, Mayer et Plantefol (cf. Magne et coll. 1932, Plantefol 1932) qui ont trouvé que cet agent augmente considérablement les oxydations cellulaires. Plusieurs confirmations ont été publiées depuis (Clowes et Krahl 1936, Krahl et Clowes 1940, Bonner 1949). Clifton et coll. (1941) ont constaté que le DNP bloque les réactions de synthèses, tandis que Loomis et Lipman (1948) démontrent qu'il interfère dans les phosphorylations oxydatives. Hotchkiss et coll. (1944) ont été parmi les premiers à utiliser le DNP dans les études d'absorption. Ils ont observé une inhibition de l'absorption par ce toxique, phénomène plusieurs fois confirmé depuis (Stenlid 1949, Robertson et coll. 1951, résultats personnels tableaux XXV et XXVI).

L'inhibition des phosphorylations oxydatives par le DNP a conduit plusieurs chercheurs (Ordin et Jacobson 1955, Sutcliffe et Hackett 1957) à postuler l'intervention d'intermédiaires phosphorylés riches en énergie dans l'absorption.

Cependant des schémas récents relatifs au mode d'action de ce toxique sur les transferts d'énergie (Lehninger et coll. 1958, Brönk et Kielley 1958) suggèrent que le DNP intervient *avant* la transformation de l'énergie libérée au cours des oxydations en liaisons phosphoriques riches en énergie. Par conséquent, il ne faut pas écarter l'hypothèse d'un transfert d'énergie au mécanisme d'absorption par une voie différente de celle d'intermédiaires phosphorylés.

Effets de l'azoture

Les effets de l'azoture ressemblent à la fois à ceux produits par le CO ou le CN^- et par le DNP ; comme les deux premiers inhibiteurs il inhibe la cytochrome oxydase (Brown et Goddard 1941, Horecker et Stannard 1948), comme le DNP il interfère sur les phosphorylations (Spiegelman et coll. 1948, Loomis et Lipman 1949), comme tous ces trois inhibiteurs il inhibe l'absorption (Lundegårdh et Burström 1933, résultats personnels tableaux XVII et XXI). Par ailleurs, son action soit sur les oxydations (Horecker et Stannard 1948), soit sur les phosphorylations (Lehninger et coll. 1958) n'est pas identique à celle des autres toxiques. Nos résultats personnels montrent une action différente de l'azoture et du DNP sur les absorptions résiduelles de Rb : les pourcentages d'inhibition par l'azoture variaient peu avec la concentration extérieure en $RbCl$; ceux produits par le DNP variaient en sens inverse de ce facteur.

En conclusion de ces considérations, le bilan total des études sur l'absorption réalisées avec des inhibiteurs, est somme toute assez décevant. En résumé, ces études montrent qu'une inhibition des oxydations, ou des transferts de l'énergie libérée au cours de ces oxydations inhibent l'absorption, mais elle nous laisse en complète ignorance sur le mode de transformation de cette énergie en énergie d'absorption, et cela bien que l'emploi des inhibiteurs dans les expériences d'absorption paraisse un des meilleurs outils en notre possession pour élucider les relations entre ce phénomène et le métabolisme.

Deux faits sont, nous semble-t-il, la cause de cet échec. D'abord nos connaissances imparfaites du mode d'action des inhibiteurs *in vivo* sur la respiration et éventuellement sur d'autres systèmes métaboliques ; ensuite notre ignorance du lien entre l'absorption et la respiration : on ignore en effet si le mécanisme d'absorption est intimement lié au système respiratoire, comme le suggèrent les hypothèses de Lundegårdh ou de Conway, ou s'il est lié à d'autres systèmes utilisant l'énergie libérée au cours de la respiration.

III - EFFETS DES INHIBITEURS SUR L'EXSORPTION

Mes expériences montrent une stimulation de l'exsorption par l'azoture et le DNP. L'action du KCN sur ce phénomène, si action il y a, est cependant beaucoup plus faible (tableau XV).

Les travaux des autres chercheurs sont en accord avec mes résultats sur les deux premiers toxiques (Stenlid 1948, 1949, Robertson et coll. 1951, Ordin et Jacobson 1955). Les résultats concernant le KCN sont plus équivoques : Stuclyffe (1954 b), Robertson et coll. (1951) n'ont observé aucun effet sur des tranches de tissus parenchymateux, à la différence de Milthorp et Robertson (1948), qui constatent une stimulation de l'exsorption en présence de ce toxique, par des racines d'Orge. La différence est peut-être d'un ordre quantitatif plutôt que qualitatif, le degré de sensibilité variant suivant le système ou l'état physiologique d'un même système. Cela nous est suggéré par le fait que dans nos expériences la réponse des racines à une concentration donnée d'inhibiteur pouvait varier considérablement d'une expérience à l'autre.

Quoiqu'il en soit, la stimulation de l'exsorption par l'azoture et le DNP est sans doute due à une modification des propriétés semi-perméables des membranes. Or ces deux toxiques interviennent dans les transferts d'énergie. Cela suggère une dépendance de ces propriétés vis-à-vis de la présence dans la membrane, de constituants dont la formation demande de l'énergie. Dans les cellules normales, ces constituants se dégraderaient et seraient formés à nouveau. En présence d'inhibiteurs, leur synthèse serait inhibée, d'où la perte progressive des propriétés semi-perméables des membranes.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous sommes maintenant en mesure de faire une brève synthèse des principales conclusions tirées au cours de cette discussion. Nous envisagerons d'abord le problème de l'espace libre auquel sont liés différents aspects de l'exsorption et de l'absorption, puis les mécanismes qui régissent ces deux phénomènes.

L'ESPACE LIBRE

L'e.l. d'un tissu ou d'un organe a été défini comme le lieu de l'absorption réversible. Il a été situé dans les régions extérieures à la principale barrière de diffusion des cellules. Différentes considérations tirées de la bibliographie nous ont conduite à identifier cette barrière à la pellicule ectoplasmique (membrane cytoplasmique) ; par conséquent, l'espace libre comprendrait les parois, les régions entre les parois et la membrane cytoplasmique (dans des conditions normales le volume de ces régions serait très faible), et la membrane cytoplasmique (côté extérieur). Le caractère vivant de cette dernière a été souligné ainsi que son aptitude à subir des modifications au cours des changements qui se produisent de ses deux côtés.

Deux composants majeurs de l'espace libre ont été distingués : l'e.l. primaire dans lequel les solutés de l'extérieur entrent par diffusion, et l'e.l. secondaire plus particulier aux ions où ils sont retenus par d'autres mécanismes.

L'estimation du volume occupé par l'e.l. primaire se heurte à des difficultés techniques dont l'une des plus importantes est la distinction entre le liquide de l'e.l. et celui qui après absorption adhère à la surface du matériel végétal. Des calculs théoriques, effectués par divers chercheurs, montrent que l'e.l. de jeunes racines de Graminées serait inférieur à 15 p. cent de leur volume, mais des recherches complémentaires nous semblent indispensables pour une meilleure estimation et aussi pour mieux préciser sa localisation dans les racines (par exemple s'il s'étend dans le cylindre central ou s'il se limite au cortex).

Nous préférons définir l'e.l. secondaire en termes de sites de rétention plutôt qu'en termes de régions. Ces sites seraient situés dans les parois et dans la pellicule cytoplasmique. Les mécanismes de rétention seront évoqués dans la section suivante.

L'EXSORPTION

L'analyse de nos expériences d'exsorption et de celles d'autres chercheurs nous a permis de distinguer en première approximation cinq mécanismes différents d'exsorption.

1/ Exsorption par l'e.l. primaire où les ions pénètrent par diffusion.

2/ Exsorption contre échanges physiologiquement peu spécifiques ; les sites d'échange seraient situés dans les parois cellulaires.

3/ Exsorption par les régions superficielles du cytoplasme (membrane cytoplasmique). Les ions y sont retenus par des liaisons réversibles ou contre échanges spécifiques. L'absorption de ces ions est au moins en partie métabolique. Leur rétention est très labile : des traitements relativement simples sont suffisants pour assurer leur passage de l'état exsorbable à l'état non exsorbable. Les caractères de cette exsorption sont déterminés par les effets du milieu d'absorption sur les membranes cytoplasmiques.

4/ Sortie rapide et brève d'ions absorbés à l'intérieur de la membrane cytoplasmique, au cours de la réadaptation de cette membrane au milieu d'exsorption.

5/ Sortie lente d'ions absorbés à l'intérieur de la membrane cytoplasmique, par diffusion ou par échange. Cette sortie peut être stimulée par la présence dans le milieu d'exsorption, de substances comme l'azoture ou le dinitrophénol qui dégradent la structure des membranes.

L'exsorption par les trois premiers mécanismes s'effectue à partir de l'e.l. et porte sur des ions réversiblement absorbés, l'exsorption par les deux autres voies porte sur l'absorption irréversible.

L'ABSORPTION

Les différentes phases de l'absorption

La représentation de l'absorption se déroulant dans le temps en deux phases, l'une rapide et brève, correspondant à l'absorption passive et réversible, l'autre plus lente et à vitesse constante, représentant l'absorption active, ne peut être généralisée. Nos courbes d'absorption en fonction du temps présentent trois parties : une première, correspondant à des durées très courtes pendant lesquelles l'absorption est essentiellement passive, une partie linéaire (entre 2 et 30 mn environ) et une troisième partie traduisant une diminution de la vitesse d'absorption en fonction du temps. L'absorption correspondant à la deuxième partie comprend des processus réversibles et irréversibles, les processus réversibles étant en partie actifs. L'absorption correspondant à la troisième partie est essentiellement active.

Il ne paraît donc pas qu'en se référant uniquement à la forme des courbes d'absorption en fonction du temps, on puisse déterminer les types des processus impliqués dans l'absorption : réversibles ou irréversibles, passifs ou actifs.

L'absorption réversible

L'absorption réversible a lieu dans l'e.l. Elle s'effectue par les trois premiers mécanismes énumérés à propos de l'exsorption mais, dans les cas de l'absorption, fonctionnant en sens inverse. Il importe de souligner que l'ab-

sorption réversible peut aussi comporter des processus actifs. Différents problèmes concernant les liens entre l'absorption réversible et irréversible ont été évoqués et discutés, mais les données ne nous semblent pas suffisantes pour aboutir à des conclusions définitives sur ces points.

L'absorption irréversible

Les expériences effectuées en présence d'inhibiteurs de la respiration, montrent indubitablement un lien entre le métabolisme, celui de la respiration en particulier, et l'absorption. Elles apportent toutefois peu de précisions sur la nature de ce lien. De telles expériences sont de toute manière difficilement interprétables, puisque, comme nous avons essayé de le démontrer, les effets de ces toxiques sur la respiration *in vivo* n'ont pas été complètement élucidés.

D'ailleurs l'absorption ne dépend pas uniquement des processus respiratoires mais de nombreux autres facteurs externes ou internes : par exemple, nos expériences relatives à l'absorption en fonction du temps suggèrent que la vitesse d'absorption dépend, dans une certaine mesure, de la teneur des racines en l'ion étudié ; la discussion concernant les Q_{10} des vitesses d'absorption fait ressortir des liens entre l'absorption et l'état physique du cytoplasme.

C'est surtout l'analyse de l'absorption en fonction de la concentration et celle des interactions d'ions de la même famille qui nous fournissent maintes preuves de la dépendance de l'absorption vis à vis de divers facteurs. En effet les différents travaux cités au cours de la discussion indiquent des variations qualitatives des relations absorption-concentration ou des interactions lorsqu'on modifie les facteurs externes (composition du milieu d'absorption) ou des facteurs internes (état physiologique du matériel absorbant). Nous avons attribué ces variations au fait que les divers événements qui se produisent dans les systèmes (cellules, tissus etc.) ne sont pas indépendants les uns des autres mais s'influencent mutuellement. Il en résulte une sorte d'ordre dynamique extrêmement complexe qui règle l'activité globale de ces systèmes. Chaque nouveau facteur agissant sur le système, rompt cet ordre et le nouvel ordre modifie et détermine l'expression du ou des mécanismes d'absorption.

En raison de ces considérations, les méthodes de la cinétique enzymatique, utilisées par plusieurs chercheurs et par nous-même, pour l'élucidation du mécanisme d'absorption, ont peu de valeur, surtout lorsqu'elles sont appliquées à des organes aussi hétérogènes que les racines.

En conclusion le mécanisme d'absorption des ions reste encore à élucider.

°

° °

La contribution positive la plus importante de ce travail concerne comme on le voit l'exsorption et les problèmes qui s'y rattachent : l'espace libre, les échanges, l'absorption réversible etc. Au sujet de l'absorption active, nous avons surtout mis en relief son aspect complexe. L'absorption active ne peut, en effet, être envisagée à l'image d'une ou deux réactions enzymatiques bien déterminées. Le mécanisme d'absorption paraît être intimement

lié au métabolisme global des cellules composant le matériel absorbant ainsi qu'à leur structure, d'où la nécessité d'approfondir la connaissance du métabolisme et de la structure en relation avec l'absorption. Ce but ne peut être atteint que par une coopération de diverses disciplines, la physiologie, la biochimie, la biophysique, la cytologie etc. Mais n'est-ce pas aussi le cas pour d'autres problèmes fondamentaux de la physiologie ?

RÉSUMÉ GÉNÉRAL

Des travaux préliminaires⁽¹⁾ sur l'interaction sodium-potassium dans les plantes halophiles et halophobes nous ont amenée à examiner de plus près l'absorption d'un seul ion. Nous avons, par la suite, étudié l'exsorption et l'absorption du rubidium, par des racines excisées d'Orge, sous l'influence de divers facteurs. L'exposé des résultats et suivi d'une large discussion générale portant non seulement sur nos propres travaux mais aussi sur ceux d'autres chercheurs.

EXSORPTION

Résultats principaux

L'intensité de l'exsorption fut appréciée par la mesure des quantités issues de la racine et retrouvées dans le milieu (traceurs radioactifs). Ce n'est que dans certains cas (cf. § 3) qu'une attention particulière dut être apportée aux masses réabsorbées pendant l'exsorption, ce qui nous permit de distinguer l'exsorption brute de l'exsorption nette, somme de la précédente et de la réabsorption. Les deux diffèrent d'ailleurs très peu et les résultats suivants, établis pour l'exsorption brute, sont valables pour l'une et l'autre.

1/ Le mode de préparation des racines après l'absorption : essuyage, lavage ou centrifugation, a une grande influence sur les masses d'ions exsorbées au tout début de l'exsorption seulement.

2/ A 1°-2° C, les masses de Rb exsorbées, $Rb_{(exs)}$, dans différents milieux varient dans l'ordre suivant :

$$Rb_{(exs\ eau)} \approx Rb_{(exs\ CaCl_2)} < Rb_{(exs\ NaCl)} < Rb_{(exs\ RbCl)} \approx Rb_{(exs\ KCl)}$$

3/ A 25° C, dans l'eau ou dans des solutions de NaCl ou de CaCl₂, on observe au cours du temps une réabsorption du Rb exsorbé. Les valeurs de l'exsorption dans ces milieux sont inférieures à celles obtenues à 1°-2° C. Ce phénomène de réabsorption ne se manifeste pas dans une solution de RbCl ou KCl. Les $Rb_{(exs)}$ correspondant à ces deux milieux sont légèrement supérieurs aux $Rb_{(exs\ RbCl)}$ et aux $Rb_{(exs\ KCl)}$ à 1°-2° C.

4/ Les courbes de l'exsorption en fonction de la durée d'exsorption (à 1°-2° C) présentent deux parties : la première curviligne, dure 20 à 40 mn, l'autre, linéaire et plus lente, peut se prolonger plusieurs heures.

5/ Le rapport du poids des racines au volume d'eau influe sur les quantités exsorbées dans ce milieu.

6/ Les courbes des $Rb_{(exs\ eau)}$ et des $Rb_{(exs\ RbCl)}$ en fonction de la durée d'absorption (celle de l'exsorption étant de 60 mn) manifestent une partie curviligne qui atteint pratiquement son asymptote horizontale aubout de 30 à 60 mn.

(1) Les données de ce travail, ainsi que celles relatives à des problèmes annexes sont présentées en supplément dans trois fascicules ronéotypés, respectivement intitulés :

- Recherches préliminaires sur l'interaction sodium-potassium dans les plantes;
- Considérations théoriques sur l'énergétique de l'absorption ;
- Relations ioniques dans les mitochondries de racines d'Orge et de Blé.

7/ Les $Rb_{(exs\ eau)}$ et les $Rb_{(exs\ RbCl)}$ augmentent en fonction de la température d'absorption ; l'effet de la température ne devient marqué qu'après les premières minutes d'absorption.

8/ Les $Rb_{(exs\ eau)}$ et les $Rb_{(exs\ RbCl)}$ augmentent avec la concentration d'absorption ; leur augmentation varie en sens inverse de ce facteur. Les espaces libres apparents calculés à partir des $Rb_{(exs\ eau)}$ atteignent, dans certains cas, des valeurs supérieures à 100 p. cent du volume des racines.

9/ Lorsqu'on transfère les racines d'une température d'absorption à une autre plus basse, mais non très proche de 0° C, les quantités ultérieurement exsorbées, tendent, à mesure que l'on prolonge la durée du séjour à la deuxième température, à se rapprocher des valeurs caractéristiques de celle-ci. Lorsque la deuxième température est voisine de 0° C, les quantités ultérieurement exsorbées, restent équivalentes aux valeurs caractéristiques de la première température.

10/ Les $Rb_{(exs\ eau)}$ et les $Rb_{(exs\ RbCl)}$ diminuent lorsque les racines après absorption préalable, subissent des traitements relativement simples comme un séjour pendant un certain temps dans une atmosphère saturée d'humidité.

La partie de la *discussion générale*, qui traite de ce problème, porte sur l'influence du mode opératoire sur l'exsorption, sur la grandeur de l'espace libre primaire (où les ions pénètrent par diffusion) et sur les mécanismes d'exsorption des ions dans l'eau ou dans des solutions salines. Nous avons distingué cinq mécanismes différents :

a) exsorption par l'espace libre primaire ;

b) exsorption par échanges physiologiquement peu spécifiques ; les sites d'échange seraient situés des parois cellulaires ;

c) exsorption par les régions superficielles du cytoplasme (membrane cytoplasmique). L'exsorption de ces ions s'effectuerait par des mécanismes réversibles, tels que des échanges spécifiques contre des ions extérieurs. L'absorption de ces ions serait, au moins en partie, métabolique. Leur rétention serait très labile : des traitements relativement simples seraient suffisants pour assurer leur passage de l'état exsorbable à l'état non exsorbable. De plus, les caractères quantitatifs ou qualitatifs de cette exsorption seraient commandés par les effets du milieu d'absorption sur les membranes cytoplasmiques ;

d) sortie rapide et brève d'ions au cours de la réadaptation des membranes cytoplasmiques au milieu d'exsorption ;

e) sortie lente par diffusion ou par échanges d'ions absorbés à l'intérieur de la membrane cytoplasmique. Cette sortie peut être stimulée par la présence dans le milieu d'exsorption de substances comme l'azote ou le dinitrophénol qui dégradent la structure des membranes.

ABSORPTION EN FONCTION DU TEMPS

Résultats principaux

Elle procède en général en trois phases : la première, rapide et brève, dure quelques minutes seulement ; la deuxième, à vitesse constante, dure de 2 à 30 mn ; la troisième, de longue durée, manifeste une diminution de la vitesse d'absorption en fonction du temps.

Les expériences d'exsorption dans l'eau ou dans une solution de RbCl montrent que les ions absorbés pendant la première phase sont en grande partie ultérieurement exsorbés ; l'absorption de ces ions (exsorbables) est peu affectée par la température ou la présence d'inhibiteurs de la respiration : elle est donc essentiellement passive. Les ions absorbés pendant la deuxième phase sont en partie exsorbables. L'absorption exsorbable est, partiellement au moins, métabolique. L'absorption pendant la troisième phase est pratiquement non exsorbable. La diminution de la vitesse d'absorption pendant cette phase est traduite par la relation suivante :

$$\frac{d\text{Rb}_a}{dt} = k (\text{Rb}_m - \text{Rb}_a)$$

(Rb_a = quantité de Rb absorbée pendant le temps t ; k = constante ; Rb_m = quantité théorique maximale de Rb susceptible d'être absorbée avec le temps). La constante Rb_m , à l'inverse de k , varie avec la concentration d'absorption.

Dans la discussion générale nous avons distingué parmi les mécanismes d'absorption,

- ceux qui s'effectuent à l'extérieur de la barrière principale de diffusion (l'espace libre) ;
- ceux qui ont lieu à l'intérieur de celle-ci.

Les premiers sont réversibles mais non nécessairement passifs, les deuxièmes sont irréversibles et actifs. La barrière cellulaire de diffusion a été localisée dans la membrane cytoplasmique. Dans l'espace libre nous avons distingué : l'espace libre primaire où les ions pénètrent par diffusion, et l'espace libre secondaire où ils sont retenus par d'autres mécanismes. Divers problèmes portant sur :

- la durée d'absorption dans l'espace libre,
- les relations entre l'absorption dans l'espace libre ou l'absorption initiale et l'absorption irréversible, ont été discutés.

Pour des systèmes à croissance faible comme les racines exisées, la vitesse d'absorption tend à devenir nulle avec le temps. Les systèmes atteignent alors leur concentration de saturation. Cette limite tient, semble-t-il, à la saturation des systèmes en l'ion étudié. Un schéma a été élaboré pour rendre compte d'une part du phénomène de saturation, indice d'un équilibre entre les ions externes et internes, et d'autre part, de l'irréversibilité de l'absorption.

EFFET DE LA TEMPERATURE

Les résultats expérimentaux montrent une variation du Q_{10} des vitesses d'absorption avec l'intervalle de température. Le Q_{10} augmente à mesure que les températures limitant l'intervalle diminuent et atteint une valeur supérieure à 3. Pour expliquer cette valeur élevée, nous nous sommes référée, dans la discussion générale, à l'hypothèse de Van den Honert relative à l'effet des basses températures sur l'état physique des membranes cytoplasmiques.

ABSORPTION EN FONCTION DE LA CONCENTRATION

Les résultats expérimentaux obtenus sont incompatibles avec l'hypothèse d'une cinétique d'absorption suivant celle d'une réaction enzymatique simple. L'hypothèse de deux réactions d'absorption type Michaelis-Menten pourrait à la rigueur expliquer certains résultats, mais non tous. L'absorption, nous semblerait-il, consiste en plusieurs réactions.

Dans la discussion générale, cette dernière hypothèse a été développée avec plus d'ampleur. La dépendance des relations absorption-concentration vis-à-vis d'une multitude de facteurs externes et internes a été soulignée. Nous avons abouti à l'impossibilité d'identifier le mécanisme d'absorption à un seul système chimique bien défini.

INTERACTION DES IONS ALCALINS

Résultats expérimentaux

L'action du Na sur l'absorption du Rb par des racines d'Orge excisées, et l'interaction Na-K sur leur absorption par des racines d'Orge et de Maïs ont été étudiées.

Le Na inhibe l'absorption du Rb et du K, le K celle du Na. L'inhibition croît avec la concentration de l'ion interférant mais l'inhibition relative (c'est-à-dire rapportée à cette concentration) diminue.

Les deux courbes d'absorption en fonction de la concentration de l'ion étudié au principal, l'une en absence, l'autre en présence d'une concentration donnée de l'ion interférant, deviennent sensiblement parallèles à partir d'une certaine concentration de l'ion étudié au principal.

Les résultats ont été interprétés comme indicatifs d'une absorption consistant en plusieurs réactions dont la sensibilité à l'ion interférant varie. L'inhibition serait du type non compétitif plus ou moins complexe.

Dans la discussion générale nous avons examiné les hypothèses les plus significatives avancées par divers chercheurs pour expliquer l'interaction des ions alcalins. L'interaction, semble-t-il, dépend de toute une constellation de facteurs externes (composition de la solution d'absorption, prétraitements des systèmes étudiés, etc.) et internes (état physiologique du système absorbant).

INFLUENCE DES INHIBITEURS SUR L'EXSORPTION, ET SUR L'ABSORPTION

Résultats expérimentaux

Le KCN, l'azoture et le dinitrophénol ont des effets différents selon qu'ils sont présents dans le milieu d'exsorption ou d'absorption.

Dans le milieu d'exsorption, le KCN a peu d'effet sur l'exsorption, tandis que l'azoture et le 2,4-dinitrophénol la stimulent. Cette stimulation croît avec la concentration des toxiques, avec la température, et avec la durée d'exsorption.

Dans le milieu d'absorption, ces trois toxiques inhibent l'absorption. L'action de l'azoture et du dinitrophénol sur l'absorption a été étudiée de plus près. Ces toxiques inhibent :

- les absorptions résiduelles (masses de Rb dans les racines à la fin de l'exsorption dans l'eau ou dans une solution de RbCl),

- les absorptions exsorbables (elles correspondent aux quantités de Rb ultérieurement exsorbées).

L'inhibition des premières est beaucoup plus marquée ; elle croît avec la durée d'absorption et la concentration des toxiques. Dans le cas du dinitrophénol, l'inhibition des absorptions résiduelles varie en sens inverse de la concentration en RbCl dans le milieu d'absorption ; dans le cas de l'azoture, elle varie peu avec ce facteur.

La *discussion générale* présente des considérations sur l'emploi des inhibiteurs dans les expériences d'absorption, et sur les effets du cyanure de, l'oxyde de carbone, de l'azoture et du dinitrophénol sur l'absorption et la respiration. La difficulté d'interprétation des expériences effectuées avec des inhibiteurs sur des systèmes intacts a été soulignée, du fait que tous les effets de ces toxiques *in vivo* n'ont pas été définitivement établis.

Ainsi deux points importants ont été mis en relief dans le présent travail :

1/ Les mécanismes intéressés dans l'absorption des ions exsorbables dans l'eau ou dans une solution saline, peuvent comporter à côté des processus "physiques" (diffusion, échanges peu spécifiques), également des processus physiologiques : absorption métabolique, échanges physiologiquement spécifiques ;

2/ Le mécanisme de l'absorption non exsorbable n'a pas pu être assimilé à une réaction enzymatique définie. L'absorption varie d'une manière complexe avec de nombreux facteurs externes et internes, et semble être intimement liée au métabolisme général du système étudié.

BIBLIOGRAPHIE

- ALBERDA (T.) - 1948. The influence of some external factors on growth and phosphate uptake of Maize plants in different salt conditions (*Rec. Trav. Bot. Neerl.*, 41, 541).
- ARISZ (W.H.) - 1945. Contribution to a theory on the absorption of salts by the plant and their transport in parenchymatous tissue (*Koninkl. Nederl. Akad. Wetench.*, XLVIII, 420).
- ARISZ (W.H.) - 1956. Significance of the symplasm theory for transport in the root (*Protopl.*, XLVI, 5).
- ARISZ (W.H.) - 1958. Influence of inhibitors on the uptake and the transport of chloride ions in leaves of *Vallisneria spiralis* (*Act. Botan. Neerland.*, 7, 1).
- ARISZ (W.H.) et SCHREUDER (M.J.) - 1956. The path of salt transport in *Vallisneria* leaves (*Proc. Kongl. Ned. Akad. Wetensch.*, C 59, 454).
- ARISZ (W.H.) et SOL (H.H.) - 1956. Influence of light and sucrose on the uptake and transport of chloride in *Vallisneria* leaves (*Acta. Botan. Neerland.*, 5, 218).
- BANGE (C.G.I.) - 1959. Interaction in the potassium and sodium absorption by intact Maize seedlings (*Plant and Soil.*, 11, 17).
- BECKING (J.H.) - 1956. On the mechanism of ammonium ion uptake by Maize roots (*Acta. Botan. Neerland.*, 5, 1).
- BENDALL (D.S.) et HILL (R.) - 1956. Cytochrome components in the spadix of *Arum maculatum* (*New Phytol.*, 55, 206).
- BENSIMON (F.) - 1960. Contribution à l'étude de l'absorption des ions rubidium et phosphoriques par des racines d'Orge excisées (Diplôme d'Etudes Supérieures., Paris).
- BONNER (J.) - 1948. Biochemical mechanisms in the respiration of the *Avena* coleoptile (*Arch. Biochem.*, 17, 326).
- BRIGGS (G.E.) - 1957. Some aspects of free space in plant tissues (*New Phytol.*, 56, 305).
- BRIGGS (G.E.) et HOPE (A.B.) - 1958. Electric potential differences and the Donnan equilibrium in plant tissues (*J. Exp. Bot.*, 9, 365).
- BRIGGS (G.E.) et ROBERTSON (R.N.) - 1948. Diffusion and absorption in disks of plant tissue (*New Phytol.*, 47, 265).
- BRIGGS (G.E.) et ROBERTSON (R.N.) - 1957. Apparent free space (*Ann. Rev. Plant Physiol.*, 8, 11).

- BRIGGS (G.E.), et HOPE (A.B.) et PITMAN (M.G.) - 1958. Exchangeable ions in Beet disks at low temperature (*J. Exp. Bot.*, 9, 128).
- BRONK (J.L.) et KIELLEY (W.) - 1958. Evidence for the point of action of 2,4-dinitrophenol on ATP ase, ATP-32 exchange, ATP-AD 32 p exchange, and phosphorylation (*Biochem. Biophys. Acta.*, 29, 369).
- BROUWER (R.) - 1954. The regulating influence of transpiration and suction tension on the water and salt uptake by the roots of intact *Vicia faba* plants (*Acta Bot. Neerland.*, 3, 264).
- BROUWER (R.) - 1956. Investigations into the occurrence of active and passive components in the ion uptake of *Vicia faba* (*Acta Bot. Neerland.*, 5, 287).
- BROWN (A.H.) et GODDARD (D.R.) - 1941. Cytochrome oxidase in Wheat embryos (*Amer. Jour. Bot.*, 28, 319).
- BROYER (T.C.) et HOAGLAND (D.R.) - 1943. Metabolic activities of roots and their bearing on the relation of upward movement of salts and water in plants (*Amer. Jour. Bot.*, 30, 261).
- BROYER (T.C.) et OVERSTREET (R.) - 1940. Cation exchange in plant roots in relation to metabolic factors (*Amer. Jour. Bot.*, 27, 425).
- BURSTRÖM (H.) - 1954 Mineralstoffwechsel (*Fachr. Bot.*, 16, 269).
- BURSTRÖM (H.) - 1957. Root surface development, sucrose inversion and free space (*Physiol. Plantar.*, 10, 741).
- BUTLER (G.W.) - 1953 a. Ion uptake by young Wheat plants. I. Time course of the absorption of potassium and chloride ions (*Physiol. Plantar.*, 6, 594).
- BUTLER (G.W.) - 1953 b. Ion uptake by young Wheat plants. II. The "apparent free space" of Wheat roots (*Physiol. Plantar.*, 6, 617).
- BUTLER (G.W.) - 1953 c. Ion uptake by young Wheat plants. III. Phosphate absorption by excised roots (*Physiol. Plantar.*, 6, 637).
- BUVAT (R.) - 1957. L'infrastructure des plasmodesmes et la continuité des cytoplasmes (*C. R. Acad. Sc.*, 245, 198).
- BUVAT (R.) et LANCE (A.) - 1957. Configuration submicroscopique de la pellicule ectoplasmique (ou membrane cytoplasmique) de diverses cellules végétales (*C. R. Acad. Sc.*, 245, 2085).
- BUVAT (R.) et PUISSANT (A.) - 1958. Observations sur la cytodierèse et l'origine des plasmodesmes (*C. R. Acad. Sc.*, 247, 233).
- CHASSON (R.M.) et LEVITT (J.) - 1957. Investigation of ion uptake by tissue slices. I. An improved method of aeration and of determining absorption ratio (*Physiol. Plantar.*, 10, 889).
- CHANCE (B.) et HACKETT (D.P.) - 1959. The electron transfert system of schunk Cabbage mitochondria (*Plant Physiol.*, 34, 33).
- CLIFTON (C.E.) - 1946. Microbial assimilations (*Adv. Enzym.*, 6, 269).

- CLOWES (G.H.A.) et KRAHL (M.E.) - 1936. Studies on cell metabolism and cell division. I. On the relation between molecular structure, chemical properties and biological activities of the nitrophenols (*J. Gen. Physiol.*, 20, 145).
- COHN (M.) et MONOD (J.) - 1953. *Adaptation in Microorganisms* (Symp. Soc. Gen. Microb., III, 132).
- COLLANDER (R.) - 1941. Selective absorption of cations by higher plants (*Plant Physiol.*, 16, 691).
- CONWAY (E.J.) - 1951. The biological performance of osmotic work. A redox pump (*Science*, 113, 270).
- CONWAY (E.J.) - 1953. A redox pump for the biological performance of osmotic work and its relation to the kinetics of free ion diffusion across membranes (*Int. Rev. Cyt.*, 2, 419).
- CONWAY (E.J.) - 1954. Some aspects of ion transport across membranes (*Symp. Exp. Biol.*, 8, 297).
- COOIL (B.J.) et BONNER (J.) - 1957. The nature of growth inhibition by calcium in the *Avena* coleoptile (*Planta*, 48, 696).
- CORMACK (R.G.H.) - 1956. A further Study on the growth of *Brassica* roots in solution of pectic enzyme (*Canad. Jour. Bot.*, 34, 983).
- DONNAN (F.G.) - 1911. Theorie der Membrangleichgewichte und Membranepotentiale bei Vorhandensein von nicht dialysierenden Elektrolyten: Ein Beitrag zur physikalisch-chemischen (*Physiol. Ztschr. f. Electrochem.*, 17, 572).
- DUCET (G.) - 1959. Communication personnelle.
- DUCET (G.) et ROSENBERG (A.J.) - 1957. Activités respiratoires chez les végétaux supérieurs IX. Nouvelles recherches sur l'action de l'oxyde de carbone (*Biochimica*, 22, 409).
- DUCET (G.), VANDEWALLE (G.) et SHEALTIEL (M.) - 1958 a. Phosphorylation oxydative par les fractions mitochondriales de racines et de feuilles (*C. R. Acad. Sc.*, 246, 1585).
- DUCET (G.), ROSENBERG (A.J.), VANDEWALLE (G.) et ANDREJEW (A.) - 1958 b. Phosphorylation oxydative par les fractions mitochondriales de racines d'Orge (*C. R. Acad. Sc.*, 246, 2657).
- ELIASON (L.) et MATHIESEN (I.) - 1956. The effect of 2,4-dinitrophenol and some oxidase inhibitors on the oxygen uptake in different parts of Wheat roots (*Physiol. Plantar.*, 9, 265).
- EPSTEIN (E.) - 1953. Mechanism of ion absorption by roots (*Nature*, 171, 83).
- EPSTEIN (E.) - 1954. Cation induced respiration in Barley roots (*Sciences*, 120, 987).
- EPSTEIN (E.) - 1955. Passive permeation and active transport of ions in plant roots (*Plant Physiol.*, 30, 529).
- EPSTEIN (E.) - 1956 a. Mineral nutrition of plants : mechanisms of uptake and transport (*Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 7, 1).
- EPSTEIN (E.) - 1956 b. Ion transport in plants (*Science*, 124, 937).

- EPSTEIN (E.) et HAGEN (C.E.) - 1952. A kinetic study of the absorption of alkali cations by Barley roots (*Plant Physiol.*, 27, 457).
- EPSTEIN (E.) et LEGGETT (J.E.) - 1954. The absorption of alkaline earth cations by Barley roots ; kinetics and mechanism (*Amer. Jour. Bot.*, 41, 785).
- FRIED (M.) et NOGGLE (J.C.) - 1958. Multiple site uptake of individual cations by roots as affected by hydrogen ions (*Plant. Physiol.*, 33, 139).
- FRIED (M.), NOGGLE (J.C.) et HAGEN (C.E.) - 1958. The relationship between adsorption and absorption of cations (*Soil Sc. Soc. Proc.*, 22, 495).
- GABET (C.) et HELLER (R.) - 1962. Quelques aspects de l'exsorption radiale chez les plantules de *Soja Hispida* (C.R. Acad. Sc., 254, 156).
- GODDARD (D.R.) - 1954. Cytochrome c and cytochrome oxidase from Wheat germ (*Amer. Jour. Bot.*, 31, 270).
- HACKETT (D.P.) et HAAS (D.W.) - 1958. Changes in the respiratory chain during incubation of Potato tuber slices (*Plant. Physiol.*, 33, Suppl. VII).
- HAGEN (C.E.) et HOPKINS (H.T.) - 1955. Ionic species in ortho phosphate absorption (*Plant Physiol.*, 30, 193).
- HAGEN (C.E.), LEGGETT (J.E.) et JACKSON (P.C.) - 1957. The sites of phosphate uptake by Barley roots (*Proc. Nat. Acad. Sc.*, 43, 496).
- HAGEN (C.E.) et coll. - 1959. Cités par Laties (1959 b).
- HANDLEY (R.) et OVERSTREET (R.) - 1955. Respiration and salt absorption by excised Barley roots (*Plant Physiol.*, 30, 418).
- HARLEY (I.L.), Mc READY (C.C.) et BRIERLEY (J.K.) - 1953. Cités par Russel (1954).
- HELDER (R.J.) - 1952. Analysis of the process of anion uptake by intact Maize plants (*Acta Bot. Neerland.*, 1, 361).
- HELDER (R.J.) - 1957 a. Exchange and circulation of labelled ions in young intact plants (*Proc. Intern. Conf. Radioisotopes Sc. Res.*, Paris).
- HELDER (R.J.) - 1957 b. The influence of pretreating young Barley plants with water and various solutions on subsequent absorption of labelled rubidium. I et II (*Proc. Nederl. Akad. Wet. Ser. C.*, 60, 603).
- HELDER (R.J.) - 1958. Studies on the absorption, distribution and release of labelled rubidium ions in young intact Barley plants (*Acta Bot. Neerland.*, 7, 235).
- HELLER (R.) - 1962. *Cours de physiologie végétale* (Centre de Documentation Universitaire, 5 Place de la Sorbonne, Paris V, I, 89).
- HIGINBOTHAM (N.) et HANSON (J.) - 1955. The relation of external concentration to amounts and rates of uptake by excised Potato tuber tissue (*Plant Physiol.*, 30, 105).
- HOAGLAND (D.R.) - 1923. The absorption of ions by plants (*Soil Sc.*, 16, 225).
- HOAGLAND (D.R.) et DAVIS (A.R.) - 1923 a. The composition of the cell sap

- of the plant in relation to the absorption of ions (*J. Gen. Physiol.*, 5, 629).
- HOAGLAND (D.R.) et BROYER (T.C.) - 1936. General nature of the process of salt accumulation by roots with description of experimental methods (*Plant Physiol.*, 11, 471).
- HOAGLAND (D.R.) et BROYER (T.C.) - 1940. Hydrogen ion effects and the accumulation of salt by Barley roots as influenced by metabolism (*Ann. Jour. Bot.*, 27, 173).
- HOAGLAND (D.R.) et DAVIS (A.R.) - 1923. Further experiments on the absorption of ions by plants including observations on the effect of light (*J. Gen. Physiol.*, 6, 47).
- HOAGLAND (D.R.), DAVIS (A.R.) et HIBBARD (P.L.) - 1928. The influence of one ion on the accumulation of another by plant cells with special reference to experiments with *Nitella* (*Plant Physiol.*, 3, 473).
- HOFSTEE (B.H.J.) - 1952. On the evaluation of the constants V_m and K_m in enzymic reactions (*Sciences.*, 116, 329).
- HONDA (S.I.) - 1955. Succino-oxidase and cytochrome oxidase in Barley roots (*Plant Physiol.*, 30, 402).
- HONDA (S.I.) et ROBERTSON (R.N.) - 1956. Studies in the metabolism of plant cells. 11. The Donnan equilibrium and the ionic relations of plant mitochondria (*Austral. J. Biol. Sc.*, 9, 305).
- HONDA (S.I.), ROBERTSON (R.N.) et GREGORY (J.M.) - 1958. Studies on the metabolism of plant cells 12. Ionic effects on oxidation of reduced diphosphopyridine nucleotide and cytochrome c by plant mitochondria (*Austral. J. Biol. Sc.*, 11, 1).
- HOPE (A.B.) - 1951. Membrane potential differences in Bean roots (*Austral. J. Sc. Res. B.*, 4, 265).
- HOPE (A.B.) - 1953. Salt uptake by root tissue cytoplasm : the relation between uptake external concentration (*Austral. J. Biol. Sc.*, 6, 396).
- HOPE (A.B.) et ROBERTSON (R.N.) - 1953. Bioelectric experiments and the properties of plant protoplasm (*Austral. J. Sc.*, 15, 197).
- HOPE (A.B.) et STEVENS (P.G.) - 1952. Electric potential differences in Bean roots and their relation to salt uptake (*Austral. J. Sc. Res. B.*, 5, 335).
- HOPKINS (H.T.) - 1956. Absorption of ionic species of orthophosphate by Barley roots : effects of 2,4-DNP and oxygen tension (*Plant Physiol.*, 31, 155).
- HORECKER (B.L.) et STANNARD (J.N.) - 1948. The cytochrome c azide complex (*J. Biol. Chem.*, 172, 589).
- HOROWITZ (N.H.), FLING (M.), MACLEOD (H.L.) SUBOKA (N.) - 1960. Genetic determination and enzymatic induction of tyrosinase in *Neurospora* (*J. Mol. Biol.*, 2, 96).
- HOTCHKISS (R.D.) - 1944. Gramicidin, tyrocidine and tyrothricin (*Adv. Enzym.*, 4, 153).
- HUMPHRIES (E.C.) - 1950. The absorption of ions by excised root systems I. Apparatus and preliminary experiments (*J. Exp. Bot.*) 1, 282).

- HURD (R.G.) - 1958. The effect of pH and bicarbonate ions on the uptake of salts by disks of red Beet (*J. Exp. Bot.*, 9, 153).
- HYLMÖ (B.) - 1953. Transpiration and ion absorption (*Physiol. Plantar.*, 6, 333).
- HYLMÖ (B.) - 1955. Passive components in the ion absorption of the plant I. The zonal ion and water absorption in Brouwer's experiments (*Physiol. Plantar.*, 8, 433).
- HYLMÖ (B.) - 1958. Passive components in the ion absorption of the plant II. The zonal water flow, ion passage and pore size in roots of *Vicia faba* (*Physiol. Plantar.*, 11, 382).
- IRWIN (M.) - 1922. The behaviour of chlorides in the cell sap of *Nitella* (*J. Gen. Physiol.*, 5, 427).
- IRWIN (M.) - 1930. Studies on penetration of dyes with glass electrode. IV. Penetration of brilliant cresyl blue into *Nitella flexilis* (*J. Gen. Physiol.*, 14, 1).
- JACOBSON (L.) - 1955. Carbon dioxide fixation and ion absorption by Barley roots (*Plant Physiol.*, 30, 264).
- JACOBSON (L.) et ORDIN (L.) - 1954. Organic acid metabolism and ion absorption in roots (*Plant Physiol.*, 29, 70).
- JACOBSON (L.) et OVERSTREET (R.) - 1947. A study of the mechanism of ion absorption by plant roots using radioactive elements (*Amer. Jour. Bot.*, 34, 415).
- JACOBSON (L.), HANNAPEL (R.J.) et MOORE (D.P.) - 1958. Non metabolic uptake of ions by Barley roots (*Plant Physiol.*, 33, 278).
- JACOBSON (L.), OVERSTREET (R.), CARLSEN (M.) et CHASTAIN (J.) - 1957. The effect of pH and temperature on the absorption of potassium and bromide by Barley roots (*Plant Physiol.*, 32, 658).
- JACOBSON (L.), OVERSTREET (R.), KING (H.M.) et HANDLEY (R.) - 1950. A study of potassium absorption by Barley roots (*Plant Physiol.*, 25, 369).
- JACQUES (A.G.) et OSTERHOUT (W.J.O.) - 1931. The accumulation of electrolytes III. Behaviour of sodium, potassium and ammonia in *Valonia* (*J. Gen. Physiol.*, 14, 301).
- JACQUES (A.G.) et OSTERHOUT (W.J.V.) - 1932. The accumulation of electrolytes IV. Internal versus external concentrations of potassium (*J. Gen. Physiol.*, 15, 537).
- JACQUES (A.G.) et OSTERHOUT (W.J.V.) - 1935. The kinetics of penetration XI. Entrance of potassium in *Nitella* (*J. Gen. Physiol.*, 18, 967).
- JAMES (W.O.) - 1953. The use of respiratory inhibitors (*Ann. Rev. Plant Physiol.*, 4, 59).
- JAMES (W.O.) - 1957. The dieckmann effect on the respiration of Barley (*Proc. Roy. Soc. Lond. B.*, 147, 307).
- JANSEN (E.F.), JANG (R.), ALBERSHEIM (P.) et BONNER (J.) - 1960. Pectic metabolism of growing cell walls (*Plant Physiol.*, 35, 87).

- JENNY (H.) et OVERSTREET (R.) - 1939. Cation interchange between plant roots and soil colloids (*Soil Sc.*, 47, 257).
- KAHN (J.S.) et HANSON (B.J.) - 1957. The kinetics of potassium accumulation by Corn roots as a fonction of cell maturity (*Plant Physiol.*, 32, 497).
- KEILIN (D.) et HARTREE (G.F.) - 1939. Cytochrome and cytochrome oxidase (*Proc. Roy. Soc. Lond. B.*, 127, 167).
- KELLER (U.P.) et DEUEL (H.Z.) - 1957. Cation-exchange capacity and pectin content of plant roots. (*Z. Pflanzenernähr. Düng Bodenk.*, 79, 119).
- KRAHL (M.E.) et CLOWES (G.H.A.) - 1940. Studies on cell metabolism and cell division. IV. Combined action of substituted phenols, cyanide, carbon monoxide and other respiratory inhibitors on respiration and cell division (*J. Gen. Physiol.*, 23, 143).
- KRAMER (P.J.) - 1957. The outer space of plants (*Science*, 125, 633).
- KRAMER (P.J.) et WIEBE (H.H.) - 1952. Longitudinal gradients of p^{32} absorption in roots (*Plant Physiol.*, 27, 261).
- KRISHNAMOORTHY (C.) et OVERSTREET (R.) - 1949. Theory of ion exchange relationships (*Soil Sc.*, 68, 307).
- KRISHNAMOORTHY (C.) et OVERSTREET (R.) - 1950. An experimental evaluation of ion exchange relationships (*Soil Sc.*, 69, 41).
- KÜSTER (E.) - 1911. Über die Aufnahme von Anilinfarben in lebende Pflanzenzellen (*Jahrb. wiss. Bot.*, 50, 261).
- KÜSTER (E.) - 1918. Über Vitalfärbung der Pflanzenzellen (*Z. wiss. Mikrosk.*, 35, 95).
- KYLIN (A.) - 1957. The apparent free space of *Vallisneria* leaves (*Physiol. Plantar.*, 10, 732).
- LAIDLER (K.J.) - 1958. *The chemical kinetics of enzyme action*. Clarendon Press, Oxford, 55 - 92.
- LAPICQUE (L.) - 1925. Sur l'absorption des sels par les cellules végétales, épictèse et sélection (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 7, 621).
- LATIES (G.G.) - 1959 a. The generation of latent-ion-transport capacity (*Proc. Nat. Acad. Sc.*, 45, 163).
- LATIES (G.G.) - 1959 b. Active transport of salt into plant tissue (*Ann. Rev. Plant Physiol.*, 10, 87).
- LEGGETT (J.E.) et EPSTEIN (E.) - 1956. Kinetics of sulfate absorption by Barley roots (*Plant Physiol.*, 31, 222).
- LEHNINGER (A.L.), WADKINS (C.L.), COOPER (C.), DEVLIN (J.M.) et GAMBLE (Jv. J.K.) - 1958. Oxidative phosphorylation (*Science.*, 128, 450).
- LEIDLER (K.J.) - 1958. *The chemical kinetics of enzyme action*. Clarendon Press Oxford., 55-92.
- LEVITT (J.) - 1957. The significance of "Apparent Free Space" (A.F.S.) in ion absorption (*Physiol. Plantar.*, 10, 882).
- LINEWEAVER (H.) et BURK (D.) - 1934. The determination of enzyme dissociation constants (*J. Amer. Chem. Soc.*, 56, 658).
- LOEHWING (F.W.) - 1937. Root interactions of plants (*Bot. Rev.*, 4, 195).

- LOOMIS (W.F.) et LIPMAN (J.F.) - 1948. Reversible inhibition of the coupling between phosphorylation and oxidation., (*J. Biol. Chem.*, 173, 807).
- LOOMIS (W.F.) et LIPMAN (F.J.) - 1949. Inhibition of phosphorylation by azide in kidney homogenate (*J. Biol. Chem.*, 179, 503).
- LUBELL (A.R.) et BONNER (W.D.) - 1958. Some respiratory characteristics of Barley seedlings (*Plant Physiol.*, 33, Supl. VI).
- LUNDEGÅRD (H.) - 1937. Untersuchungen über die Anionenatmung (*Biochem. Z.*, 290, 104).
- LUNDEGÅRD (H.) - 1940. The absorption and accumulation of inorganic ions (*Kungl. Lantbrukshögskolans Ann.*, 8, 233).
- LUNDEGÅRD (H.) - 1942. Investigation of the electrochemical properties of the root system of plants (*Kungl. Lantbruksakademiens Tid.*, 81, 115).
- LUNDEGÅRD (H.) - 1945. Absorption, transport and exudation of inorganic ions by the roots (*Arkiv. Bot.*, 32 A, N° 12).
- LUNDEGÅRDH (H.) - 1949 a. Quantitative relations between respiration and salt absorption (*Kungl. Lantbrukshögskolans Ann.*, 16, 372).
- LUNDEGÅRDH (H.) - 1949 b. The time course of ion absorption of Wheat roots and the influence of concentration (*Physiol. Plantar.*, 2, 388).
- LUNDEGÅRDH (H.) - 1951. Spectroscopic evidence of the participation of the cytochrome - cytochrome oxidase system in the active transport of salts (*Arkiv. Kemi.*, 3, 369).
- LUNDEGÅRDH (H.) - 1952. Properties of the cytochrome system of living Wheat roots (*Nature.*, 169, 1088).
- LUNDEGÅRDH (H.) - 1954. Anion respiration (*Symp. Soc. Exp. Biol. VIII*, 262).
- LUNDEGÅRDH (H.) - 1958 a. Investigations on the mechanism of absorption and accumulation of salts. I. Initial absorption and continued accumulation of potassium chloride by Wheat roots (*Physiol. Plantar.*, 11, 332).
- LUNDEGÅRDH (H.) - 1958 b. Investigations on the mechanism of absorption and accumulation of salts. II. Absorption of phosphate by Potato tissue (*Physiol. Plantar.*, 11, 564).
- LUNDEGÅRDH (H.) - 1958 c. Investigations on the mechanism of absorption and accumulation of salts. III. Quantitative relations between salt uptake and respiration (*Physiol. Plantar.*, 11, 585).
- LUNDEGÅRDH (H.) - 1959. Investigations on the mechanism of absorption and accumulation of salts. V. Retention and elution of absorbed salts (*Physiol. Plantar.*, 12, 342).
- LUNDEGÅRDH (H.) et BURSTROM (H.) - 1933. Untersuchungen über die Salzanfnahme der Pflanzen: Quantitative Beziehungen zwischen Atmung und Anionaufnahme (*Biochem. Z.*, 261, 235).
- LUNDEGÅRDH (H.) et BURSTRÖM (H.) - 1934. Zwei verschiedene Atmungsmechanismen in pflanzlichen Absorptionsorganen (*Naturwiss.*, 22, 435).
- LUNDEGÅRDH (H.) et BURSTRÖM (H.) - 1935. Untersuchungen über die Atmungsvorgänge in Pflanzenwurzeln (*Biochem. Z.*, 277, 223).
- MACHLIS (L.) - 1944. The influence of some respiratory inhibitors and in-

- intermediates on respiration and salt accumulation of excised roots (*Amer. Jour. Bot.*, **31**, 281).
- MAGNE (H.), MAYER (A.) et PLANTEFOL (L.) - 1932. Action pharmacodynamique des phénols nitrés. Un agent augmentant les oxydations cellulaires : le dinitrophénol 1-2-4 (Thermol) (*Ann. Physiol. Physicochim. Biol.*, **VIII**, 1).
- MCDONALD (J.R.) - 1959. Changes in sensitivity to inhibitors of disks of storage tissue (*Ann. Bot. N.S.*, **23**, 24).
- MCDONALD (J.R.) et DEKOCK (P.C.) - 1958. Stimulation of leaf respiration by respiratory inhibitors (*Physiol. Plantar.*, **11**, 464).
- MIDDLETON (L.J.) et RUSSEL (R.S.) - 1958. The interaction of cations in absorption by plant tissues (*J. Exp. Bot.*, **9**, 115).
- MILLER (E.C.) - 1938. *Plant Physiology*. The Graw Hill Book company ed. New-York, Chapitre II.
- MILLER (G.W.) et EVANS (H.J.) - 1956. The influence of salts on the activity of particulate cytochrome oxidase from roots of higher plants (*Plant Physiol.*, **31**, 357).
- MILTHORP (J.) et ROBERTSON (R.N.) - 1948. Studies on the metabolism of plant cell. 6. Salt respiration and accumulation in Barley roots (*Austral. J. Exp. Biol. Med. Sc.*, **26**, 189).
- NIELSEN (T.R.) et OVERSTREET (R.) - 1955. A study of the role of hydrogen ion in the mechanism of potassium absorption by excised roots (*Plant Physiol.*, **30**, 303).
- OLSEN (C.) - 1950. The significance of concentration on the rate of ion absorption by higher plants in water culture (*Physiol. Plantar.*, **3**, 152).
- ORDIN (L.) et JACOBSON (L.) - 1955. Inhibition of ion absorption and respiration in barley roots (*Plant Physiol.*, **30**, 21).
- OSTERHOUT (W.J.V.) - 1911. The permeability of living cells to salts in pure and balanced solution (*Science*, **34**, 187).
- OSTERHOUT (W.J.V.) - 1912. Permeability of protoplasm to ions and the theory of antagonism (*Science*, **35**, 112).
- OSTERHOUT (W.J.V.) - 1918. A method for measuring the electrical conductivity of living tissues (*J. Biol. Chem.*, **36**, 557).
- OSTERHOUT (W.J.V.) - 1921. Conductivity and permeability (*J. Gen. Physiol.*, **4**, 1).
- OSTERHOUT (W.J.V.) - 1922. Some aspects of selective absorption (*J. Gen. Physiol.*, **5**, 225).
- OSTERHOUT (W.J.V.) - 1925. Is the living protoplasm permeable to ions ? (*J. Gen. Physiol.*, **8**, 131).
- OSTERHOUT (W.J.V.) - 1930. The kinetics of penetration. I. Equations for the entrance of electrolytes (*J. Gen. Physiol.*, **13**, 261).
- OSTERHOUT (W.J.V.) - 1931. The accumulation of electrolytes. II. Suggestions as to nature of accumulation in *Valonia* (*J. Gen. Physiol.*, **14**, 28).
- OSTERHOUT (W.J.V.) - 1933. The kinetics of penetration IV. Diffusion against growing potential gradient in models (*J. Gen. Physiol.*, **16**, 157).

- OSTERHOUT (W.J.V.) - 1952. The mechanism of accumulation in living cells (*J. Gen. Physiol.*, 35, 579).
- OSTERHOUT (W.J.V.) - 1956. Ion absorption (*J. Gen. Physiol.*, 39, 963).
- OSTERHOUT (W.J.V.) - 1957. The use of aquatic plants in the study of some fundamental problems (*Ann. Rev. Plant Physiol.*, 8, 1).
- OSTERHOUT (W. J. V.) et DORCAS (M. J.). - 1925. The penetration of carbon dioxide into living protoplasm (*J. Gen. Physiol.*, 9, 255).
- OSTERHOUT (W. J. V.) et STANLEY (W. M.). - 1932. The accumulation of electrolytes. V. Models showing an accumulation and a steady state (*J. Gen. Physiol.*, 15, 667).
- OSTERLIND (S.). - 1951. Anion absorption by alga with cyanide resistant respiration (*Physiol. Plantar.*, 4, 258).
- OVERSTREET (R.). - 1957. Comments on the absorption of inorganic ions by root cells (*Plant Physiol.*, 32, 491).
- OVERSTREET (R.) et BROYER (T. C.). - 1940. The nature of absorption of radioactive isotopes by living tissues as illustrated by experiments with Barley roots (*Proc. Nat. Acad. Sc.*, 26, 16).
- OVERSTREET (R.) et JACOBSON (L.). - 1946. The absorption by roots of rubidium and phosphate ions at extremely small concentrations as revealed by experiments with ^{86}Rb and ^{32}P prepared without inert carrier (*Amer. Jour. Bot.*, 33, 107).
- OVERSTREET (R.) et JACOBSON (L.). - 1952. Mechanisms of ion absorption by roots (*Ann. Rev. Plant Physiol.*, 3, 189).
- OVERSTREET (R.) et JENNY (H.). - 1939. Studies pertaining to the cation absorption mechanism of plants in soil (*Soil Sc., Soc. Amer. Proc.*, 4, 125).
- OVERSTREET (R.), BROYER (T. C.), ISAACS (T. L.) et DELWICHE (C. C.). - 1942. Additional studies regarding the action absorption mechanism of plants in soil (*Amer. Jour. Bot.*, 29, 227).
- OVERSTREET (R.), JACOBSON (L.) et HANDLEY (R.). - 1952. The effect of calcium on the absorption of potassium by Barley roots (*Plant Physiol.*, 27, 583).
- OVERTON (E.). - 1895. Über die osmotischen Eigenschaften der lebenden Pflanzen und Tierzelle (*Vierteljahrsschrift Natur. Ges. Zurich.*, 40, 159).
- OVERTON (E.). - 1900. Studien über die Aufnahme der Anilin Farben durch die lebende Zelle (*Jahr. Wiss. Bot.*, 34, 669).
- PLANTEFOL (L.). 1932. Etudes sur l'action du dinitrophénol 1-2-4 (Thermol). VII. Action du dinitrophénol 1-2-4 sur la respiration de cellules et tissus végétaux (*Ann. Physiol. Physicochim. Biol.*, VIII, 127).
- REES (T.). - 1958. Cytochrome oxydase in mycorrhizal and uninfected roots of *Fagus silvatica* (*Plant Physiol.*, 33, Sup. X).
- ROBERTSON (R.N.). - 1941. Accumulation of chlorides by plant cells and its relation to respiration (*Austral. J. Exp. Biol. Med. Sc.*, 19, 265).
- ROBERTSON (R.N.). - 1944. Studies in the metabolism of plant cells. II. Effects of temperature on accumulation of KCl and on respiration (*Austral. J. Exp. Biol. Med. Sc.*, 22, 189).

- ROBERTSON (R.N.). - 1951. Mechanism of absorption and transport of inorganic nutrients in plants (*Ann. Rev. Plant Physiol.*, 2, 1).
- ROBERTSON (R.N.). - 1956. The mechanism of absorption (*Nandbuckder Pflanzenphysiologie*, Springer-Verlag, Berlin, II, 449).
- ROBERTSON (R.N.) et THORN (M.). - 1945. Studies in the metabolism of plant cells. 4. The reversibility of salt respiration (*Austral. J. Exp. Biol. Med. Sc.*, 23, 305).
- ROBERTSON (R.N.) et TURNER (J.S.). - 1945. Studies in the metabolism of plant cells. 3. The effects of cyanide on the accumulation of potassium chloride and on respiration. The nature of salt respiration (*Austral. J. Exp. Biol. Med. Sc.*, 23, 63).
- ROBERTSON (R.N.). et WILKINS (M.J.) - 1948. Quantitative relation between salt accumulation and salt respiration in plant cells (*Nature*, 161, 101).
- ROBERTSON (R.N.), WILKINS (M.J.) et WEEKS (D.C.). - 1951. Studies on the metabolism of plant cells. 9. The effects of 2,4-dinitrophenol on salt accumulation and salt respiration (*Austral. J. Sc. Res. B.*, 4, 248).
- ROBERTSON (R.N.), WILKINS (M.J.), HOPE (A.B.) et NESTEL (L.). - 1955. Studies on the metabolism of plant cells. 10. Respiration activity and ionic relation of plant mitochondria (*Austral. J. Biol. Sc.*, 8, 164).
- ROSENBERG (T.). - 1954. The concept and definition of active transport (*Symp. Soc. Exp. Biol.*, 8, 27).
- ROSENBERG (T.) et WILBRANDT (W.). - 1955. The kinetics of membrane transports involving chemical reactions (*Exp. Cell Res.*, 9, 49).
- RUFZ de LAVISON (J.). - 1910. Du mode de pénétration de quelques sels dans la plante vivante. Rôle de l'endoderme (*Rev. Gen. Bot.*, 22).
- RUHLAND (W.) - 1912. Die Plasmahaut als Urtrafilter bei der Kolloidaufnahme (*Ber. Deut. Bot. Ges.* 34, 139).
- RUHLAND (W.) - 1914. Weitere Beiträge zur Kolloidchemie und physikalischen Chemie der Zelle (*Jahr. Wiss. Bot.*, 54, 391).
- RUSSEL (R.S.) - 1954. The relationship between metabolism and the accumulation of ions by plants (*Symp. Soc' Exp. Biol.*, VIII, 346).
- RUSSEL (R.S.) et BARBER (D.A.) - 1960. The relationship between salt uptake and the absorption of water by intact plants (*Ann. Rev. Plant Physiol.*, 11, 122).
- RUSSEL (R.S.) et SHORROCKS (V.M.) - 1959. The relationship between transpiration and the absorption of inorganic ions by intact plants (*J. Exp. Bot.*, 10, 301).
- SCHUFFELEN (A.C.) et BOLT (G.H.) - 1958. Ionic equilibria in soils (*Inter. Soc. Soil Sc.*, 24, II, 132).
- SCHUFFELEN (A.C.) et LOOSJES (H.) - 1942 a. Importance of the growth medium for the absorption of cations by plants (*Proc. Netherl. Acad. Sc.*, 45, 726).
- SCHUFFELEN (A.C.) et LOOSJES (H.) - 1942 b. The influence of ionic activity and ion concentration of the medium on absorption of cations by plants (*Proc. Netherl. Akad. Wetensch.*, 45, 944).

- SCHUFFELEN (A.C.) et LOOSJES (H.) - 1946. Importance of the ion activity of the medium and the root potential for the cation absorption by the plant (*Proc. Netherl. Acad. Sc.*, 49, 80).
- SCHUFFELEN (A.C.) et MIDDELBURG (H.A.) - 1956. Les relations entre les phénomènes d'échange ionique dans les sols et dans les plantes (*Netherl. J. Agric. Sc.*, 1, 97).
- SCOTT (G.T.) et de VOE (R.) - 1957. The reversible replacement of potassium and rubidium in *Ulva lactuca* (*Biol. Bull.*, 112, 249).
- SHEALTIEL (M.) - 1958. Espace libre apparent et absorption du rubidium par les racines d'Orge (*C. R. Acad. Sc.*, 247, 507).
- SHEALTIEL (M.) et DUCET (G.) - 1959. Considerations sur les relations entre l'absorption des sels minéraux et la respiration (*C. R. Acad. Sc.*, 249 757).
- SPIEGELMAN (S.), KAMEN (M.D.) et SUSSMAN (M.) - 1948. Phosphate metabolism and the dissociation of anaerobic glycolysis from synthesis in the presence of sodium azide (*Arch. Biochem.*, 18, 409).
- STANNARD (J.N.) et HORECKER (B.L.) - 1948. In vitro inhibition of cytochrome oxidase by azide and cyanide (*J. Biol. Chem.*, 172, 599).
- STENLID (G.) - 1948. The effect of sodium azide on the exudation and oxygen consumption of excised plant roots (*Physiol. Plantar.*, 1, 185).
- STENLID (G.) - 1949. The effect of 2,4-dinitrophenol upon oxygen consumption and glucose uptake in young Wheat roots (*Physiol. Plantar.*, 2, 350).
- STENLID (G.) - 1958. Salt losses and redistribution of salts in higher plants (*Handbuch der Pflanzenphysiologie*, Springer-Verlag, Berlin, IV, 615).
- STEWART (F.C.) - 1932 a. The absorption and accumulation of solutes by living plants. I. Experimental conditions which determine salt absorption by storage tissue (*Protopl.*, 15, 29).
- STEWART (F.C.) - 1932 b. The absorption and accumulation of solutes by living plants. II. A technique for the study of respiration and salt absorption in storage tissue under controlled environmental conditions (*Protopl.*, 15, 497).
- STEWART (F.C.) - 1932 c. The absorption and accumulation of solutes by living plants. IV. Surface effects with storage tissues : a quantitative interpretation with respect to respiration and salt absorption (*Protopl.*, 17, 436).
- STEWART (F.C.) - 1937. Salt accumulation by plants. The role of growth and metabolism (*Trans. Faraday Soc.*, 33, 1006).
- STEWART (F.C.) et MILLAR (F.K.) - 1954. Salt accumulation in plants. A reconsideration of the role of growth and metabolism (*Symp. Soc. Exp. Biol.*, 8, 367).
- STEWART (F.C.) et PRESTON (C.) - 1940. Metabolic processes of Potato disks under conditions conducive to salt accumulation (*Plant Physiol.*, 15, 23).
- STEWART (F.C.) et PRESTON (C.) - 1941. Effects of pH and the components of bicarbonate and phosphate buffered solutions on the metabolism of Potato disks and their ability to absorb ions (*Plant Physiol.*, 16, 481).

- STEWART (F.C.) et STREET (H.E.) - 1947. The nitrogenous constituents of plants (*Ann. Rev. Biochem.*, 16, 471).
- STEWART (F.C.), STOUT (P.R.) et PRESTON (C.) - 1940. The balance sheet of metabolites for Potato disks showing the effects of salts and dissolved oxygen metabolism at 23° C (*Plant Physiol.*, 15, 409).
- SUTCLIFFE (J.F.) - 1952. The influence of internal concentration on potassium accumulation and salt respiration of red Beet root tissue (*J. Exp. Bot.*, 3, 59).
- SUTCLIFFE (J.F.) - 1954 a. The exchangeability of potassium and bromide ions in cells of red Beet root tissue (*J. Exp. Bot.*, 5, 319).
- SUTCLIFFE (J.F.) - 1954 b. Cation absorption by non-growing plant cells (*Symp. Soc. Exp. Biol.*, VIII, 325).
- SUTCLIFFE (J.F.) - 1957. The selective uptake of alkali cations by red Beet root tissue (*J. Exp. Bot.*, 8, 36).
- STUCLIFFE (J.F.) - 1960. New evidence for a relationship between ion absorption and protein turnover in plant cells (*Nature*, 188, 294).
- SUTCLIFFE (J.F.) et HACKETT (D.P.) - 1957. Efficiency of ion transport in biological systems (*Nature*, 180, 95).
- SUTTER (E.) - 1950. Über die Wirkung des Kohlenoxyds auf Atmung und Ionenaufnahme von Weizenwurzeln (*Experientia*, 6, 264).
- TAGAVA (T.) et BONNER (J.) - 1957. Mechanical properties of the *Avena* coleoptile as related to auxin and to ionic interaction (*Plant Physiol.*, 32, 207).
- TANDELOO (H.J.C.), VERVELDE (G.J.) et VOORSPUIJ (A.J.) - 1946. Electrochemical behaviour of ion exchanging substances. II. Potential measurements on plant roots and their bearing on ion uptake by plants (*Rec. Trav. Chem.*, 65, 539).
- VAN DEN HONERT (T.H.) - 1933. The phosphate absorption by Sugar Cane. (Verslag 13e Byeenkomst van den Vereeniging van Proefstations - Personeel).
- VAN DEN HONERT (T.H.) - 1936. Limiting factors in phosphate absorption. (Verslag 16e Vergadering van de Vereeniging van Proefstation. Personeel. Djemmer).
- VAN DEN HONERT (T.H.) et HOOYMANS (J.J.) - 1955. On the absorption of nitrate by Maize in water culture (*Acta Bot. Neerland.*, 4, 377).
- VAN DEN HONERT (T.H.), HOOYMANS (J.J.) et VOLKERS (W.S.) - 1955. Experiments on the relation between water absorption and mineral uptake by plant roots (*Acta Bot. Neerland.*, 4, 139).
- VAN LOOKEREN CAMPAGNE - 1957. Light dependent chloride absorption in *Vallisneria* leaves (*Acta Bot. Neerland.*, 6, 543).
- VERVELDE (G.J.) - 1953. The Donnan principle in the ionic relations of plant roots (*Plant and Soil*, 4, 309).
- VERVELDE (G.J.) - 1955. A physicochemical analysis of salt accumulation by plant roots (*Plant and Soil* ; 6, 226).

- VIETS (F.G.) - 1944. Calcium and other polyvalent cations as accelerators of ions accumulation by excised Barley roots (*Plant Physiol.*, 19, 466).
- WALKER (N.H.) - 1957. Ion permeability of the plasmalemma of the plant cell (*Nature*, 180, 94).
- WARBURG (O.) - 1949. *Heavy metal prosthetic groups and enzyme action*. The Clarendon Press, Oxford.
- WEEKS (D.C.) et ROBERTSON (R.N.) - 1950. Studies in the metabolism of plant cells, 8. Dependence of salt accumulation and salt respiration upon the cytochrome system (*Austral. J. Sc. Res. B.*, 3, 487).
- WOOLLEY (J.T.) - 1959. Communication personnelle.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION.....	3
PREMIERE PARTIE	
ETUDE GENERALE DES PHENOMENES D'ABSORPTION	
CHAPITRE I - EVOLUTION DES CONCEPTIONS	9
I - Anciennes hypothèses : les théories de la perméabilité pas- sive	9
II - Conceptions dans la période entre les deux guerres	9
III - Conceptions modernes	11
CHAPITRE II - APERCU ANALYTIQUE DES RECHERCHES SUR L'ABSORPTION	13
I - Travaux d'Osterhout et de Hoagland.....	13
1 - Travaux d'Osterhout.....	13
2 - Travaux de Hoagland.....	14
II - Ecoles Suédoises et Irlandaise.....	15
1 - La théorie de la respiration anionique (R.A.) de Lun- degårdh.....	15
2 - Travaux de Burström (Lund).....	17
3 - La théorie de la pompe oxydoréductrice de Conway...	17
III - Ecoles Néerlandaises.....	18
1 - Travaux d'Arisz ; la théorie du symplasma.....	18
2 - Travaux de Van den Honert ; l'hypothèse de la cour- roie (revolving belt).....	19
3 - Théories de Vervelde et de Schuffelen.....	20
IV - Ecoles Anglo-Saxonnes.....	20
1 - Travaux de F.C. Steward (Grande Bretagne).....	20
2 - Travaux de Sutcliffe (Grande Bretagne).....	21
3 - Travaux d'Oversreet et de ses collaborateurs (Etats- Unis).....	21
4 - Travaux d'Epstein et de ses collaborateurs (Etats-Unis)..	22
5 - Travaux de l'école australienne (Robertson et ses colla- borateurs).....	22

DEUXIEME PARTIE

TECHNIQUES ET METHODES, RESULTATS EXPERIMENTAUX

CHAPITRE III - TECHNIQUES ET METHODES EXPERIMENTALES	29
I - Obtention et préparation du matériel expérimental.....	29
Variétés utilisées.....	29
Préparation des racines excisées.....	29
Préparation des plantules entières et de certaines racines excisées témoins.....	30
II - Techniques expérimentales.....	31
Schéma général d'une expérience.....	31
Préparation et composition des solutions.....	32
Remarques générales relatives à l'étude de l'absorption et l'exsorption.....	32
Conduite des expériences sur des racines excisées.....	33
Conduite des expériences sur des plantules entières et certaines racines excisées témoins.....	35
Minéralisation.....	35
Mesures de radioactivité.....	36
III - Expression des résultats - nombre de répétitions, erreurs expérimentales.....	36
Mode d'expression des résultats.....	36
Nombre de répétitions.....	36
Erreurs expérimentales.....	36
CHAPITRE IV - L'EXSORPTION	39
I - Influence du mode opératoire et des conditions de l'exsorption.	39
1 - Influence du mode de préparation des racines.....	39
2 - Influence de la température et de la composition du milieu d'exsorption.....	40
3 - Influence de la durée.....	42
4 - Influence du rapport du poids des racines au volume d'eau.....	44
5 - Influence de la concentration extérieure de RbCl.....	46
II - Influence des conditions d'absorption préalables sur l'exsorption.....	46
1 - Influence de la durée d'absorption.....	46
2 - Influence de la concentration.....	49
III - Expériences diverses.....	52
1 - Influence d'un changement de température au cours de l'absorption sur l'exsorption ultérieure.....	52
2 - Influence d'un séjour dans l'eau, après absorption préalable, sur l'exsorption dans une solution de RbCl.....	54

	Pages
3 - Influence d'un séjour dans une atmosphère saturée d'humidité sur l'exsorption.....	55
IV - Discussion.....	56
Résumé et conclusions.....	59
CHAPITRE V - ABSORPTION EN FONCTION DU TEMPS	61
A - Absorption en fonction du temps par des racines excisées d'Orge.....	61
1 - Forme générale des courbes.....	61
2 - Variation de $\frac{dRb}{dt}$ pendant la troisième phase.....	63
3 - Détermination des constantes k et Rb_m	65
4 - L'absorption pendant les deux premières phases.....	65
B - Absorption en fonction du temps par des racines d'Orge non excisées et des racines excisées témoins.....	71
C - Absorption en fonction du temps par des racines excisées de Blé	73
Résumé et conclusions.....	73
CHAPITRE VI - ABSORPTION EN FONCTION DE LA TEMPERATURE	75
1 - Influence de la température sur l'absorption en fonction du temps.....	75
2 - Influence de la température sur l'absorption en fonction du temps et de la concentration	78
Résumé et conclusions.....	81
CHAPITRE VII - ABSORPTION EN FONCTION DE LA CONCENTRATION	82
I - Principe de l'analyse cinétique	82
II - Résultats expérimentaux.....	84
1 - Expériences réalisées avec l'ions Rb	84
2 - Expériences réalisées avec les ions Na^+ et K^+	86
III - Discussion.....	86
Résumé et conclusions.....	89
CHAPITRE VIII - INTERACTION DES IONS ALCALINS (Rb^+ , Na^+ , K^+)	90
I - Principe de l'analyse cinétique	90
II - Résultats expérimentaux.....	92
1 - Influence du Na sur l'absorption du Rb^+	92
2 - Influence du Na et du K sur leur absorption mutuelle.....	95
III - Discussion.....	99
Résumé et conclusions.....	104

ANNEXE	104
CHAPITRE IX - EXSORPTION ET ABSORPTION EN PRESENCE D'INHIBITEURS	106
I - Influence des inhibiteurs sur l'exsorption du Rb préalablement absorbé	106
1 - Influence du KCN.....	106
2 - Influence de l'azoture.....	107
3 - Influence du dinitrophénol.....	109
II - Influence des inhibiteurs sur l'absorption.....	111
1 - Influence du KCN et du diethyldithiocarbamate	111
2 - Influence de l'azoture.....	111
3 - Influence du dinitrophénol.....	117
III - Discussion.....	122
Résumé et conclusions.....	123
TROISIEME PARTIE	
DISCUSSION GENERALE	
CHAPITRE X - LE DEROULEMENT DE L'ABSORPTION DANS LE TEMPS	127
I - Localisation de la principale barrière de diffusion.....	128
II - L'absorption en fonction du temps dans l'e.l.....	130
1 - Les différents constituants de l'e.l.....	130
2 - Méthodes de mesure de l'absorption réversible en fonction du temps.....	130
3 - Allure des courbes.....	131
4 - Durée de l'absorption réversible.....	131
III - L'absorption irréversible en fonction du temps.....	134
1 - Méthodes de mesure.....	134
2 - Le déroulement initial de l'absorption irréversible...	134
3 - Relation entre l'absorption initiale et l'absorption irréversible	136
4 - Variation de la vitesse d'absorption irréversible....	136
CHAPITRE XI - L'EXSORPTION	139
I - Influence du mode opératoire sur l'exsorption.....	139
a - Mode de préparation des racines après l'absorption..	139
b - Température.....	140
c - Rapport du poids des organes au volume et à la concentration du milieu d'exsorption.....	140
d - Mesure de l'exsorption.....	141
II - L'exsorption dans l'eau.....	141
a - Exsorption par l'e.l. primaire.....	142
b - Exsorption d'origine différente de l'e.l. primaire....	144
III - L'exsorption dans des solutions salines.....	146

	Pages
CHAPITRE XII - INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR L'ABSORPTION	148
1 - Influence de la température sur l'absorption en fonction du temps.....	148
2 - Variation des Q_{10} avec l'intervalle de température..	149
CHAPITRE XIII - INFLUENCE DE LA CONCENTRATION SUR L'ABSORPTION	150
CHAPITRE XIV - L'INTERACTION DES IONS ALCALINS (Na^+ , K^+ , Rb^+)	153
CHAPITRE XV - INFLUENCE DES INHIBITEURS SUR L'ABSORPTION, SUR LA RESPIRATION ET SUR L'EXSORPTION	156
I - Emploi des inhibiteurs dans les expériences d'absorption..	156
II - Effets des inhibiteurs sur l'absorption et sur la respiration.	157
1 - Effets du CO et du CN^-	157
2 - Effets du dinitrophénol.....	160
3 - Effets de l'azoture.....	161
III - Effets des inhibiteurs sur l'exsorption.....	161
CONCLUSIONS GENERALES	163
L'espace libre.....	163
L'exsorption.....	164
L'absorption.....	164
Les différentes phases de l'absorption	164
L'absorption réversible	164
L'absorption irréversible	165
Résumé général.....	167
Bibliographie	172

DEUXIEME THESE

Propositions données par la Faculté

LES AUXINES CHEZ LES ALGUES ET LES CHAMPIGNONS

Vu et approuvé :

Paris, le 13 Novembre 1962

Le Doyen de la Faculté des Sciences,
Marc ZAMANSKY

Vu

et Permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie
de Paris,
Jean ROCHE

IMP. LOUIS-JEAN — GAP

Dépôt légal n° 59 — 1963

